

**SPEKTRALPHOTOMETRISCHE FARBMESSUNGEN
UND HÄMOGLOBINBESTIMMUNGEN
AN ORGANGEFRIERSCHNITTEN**

Alfred Spuhler

—
1974
—



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41551925_0058

Aus dem Institut für gerichtliche Medizin und Versicherungs-
Medizin der Universität München
Direktor: Professor Dr. med. W. Spann

SPEKTRALPHOTOMETRISCHE FARB-
MESSUNGEN UND HÄMOGLOBINBE-
STIMMUNGEN AN ORGANGEFRIER-
SCHNITTEN

INAUGURAL-DISSERTATION

zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfaßt und

EINER HOHEN MEDIZINISCHEN FAKULTÄT

vorgelegt von
ALFRED SPUHLER
geboren in München

München 1974

Mit Genehmigung
der Medizinischen Fakultät
der Universität München



Berichterstatter: Professor Dr. phil. nat. G. Hauck
Mitberichterstatter: Professor Dr. med. W. Spann
Dekan: Professor Dr. med. W. Spann
Tag der mündlichen Prüfung : 23.7.1974

Herrn Professor Dr. phil. nat. Gerhard Hauck, unter dessen Leitung und Betreuung diese Arbeit entstand, fühle ich mich zu großem Dank verpflichtet.

Mein besonderer Dank gilt auch Herrn Professor Dr. med. Wolfgang Spann für die Arbeitsmöglichkeit am Institut für Rechtsmedizin der Universität München. Ihm und allen Obduzenten danke ich für die jederzeit freundliche Unterstützung im Sektionssaal.

Schließlich möchte ich Herrn Dr. rer. nat. Gundolf Beier, Herrn Ludwig von Mayer für die Beratung am Spektralphotometer und Fräulein Marion Schmitt für die Hinweise beim Arbeiten im histologischen Labor danken.

G L I E D E R U N G

V O R W O R T : Bedeutung der Organfarbbestimmung

A L L G E M E I N E Ü B E R L E G U N G E N :

1. DIE GRUNDIDEE ZU DIESER ARBEIT (Versuche von Lins)
2. AUFGABENSTELLUNG
3. VERSUCHSMODELL UND GERÄTE

V O R V E R S U C H E :

1. DURCHFÜHRUNG DER ERSTEN VERSUCHE
2. ENTWICKLUNG DER METHODE
3. ERGEBNISSE DER VORVERSUCHE

U N T E R S U C H U N G E N Ü B E R D I E

O R G A N F A R B V A L E N Z :

1. ORGANFARBESTIMMUNG AUS DER LAGE DER MAXIMA :
BLUTSPEKTRUM UND ORGANFARBE
2. ORGANFARBESTIMMUNG DURCH UNTERSCHIEDLICHE
SPEKTRALE VERTEILUNG DES LICHTS
3. ERGEBNISSE DER UNTERSUCHUNG DER EXTINKTIONSVERHÄLTNISSE

H Ä M O G L O B I N B E S T I M M U N G A N O R G A N E N

1. METHODE UND ZIELSETZUNG
2. AUSWERTUNG DER HB-BESTIMMUNG
 - A Die Blutvergleichskurven
 - B Die Vermessung der Maxima
 - C Die Berechnung der HB-Werte
3. ERGEBNISSE DER HB-BESTIMMUNG
 - A Der Vergleich mit dem Sektionsprotokoll
 - B Der Vergleich mit Todesursache und Organveränderungen
 - C Genauigkeit der HB-Bestimmung

S C H L U S S : Weitere Versuche mit dieser Methode

VORWORT

Angaben über Organfarbe und- Durchblutung spielen für die Beurteilung von pathologischen Organveränderungen, für die Diagnosestellung am Lebenden wie an der Leiche eine große Rolle. Typische Farb- und Durchblutungsänderungen gehören zu den Charakteristika vieler Erkrankungen und werden in der forensischen Medizin häufig mit zur Feststellung der Todesursache herangezogen. Aus der Vielzahl der Beispiele seien die farblichen Abweichungen von der Norm bei Fettleber, brauner Leberatrophie, Lebercirrhose, bei Infarktnarben am Herzen etc., die Bläße der Organe beim Verblutungstod genannt. Die Beurteilung solcher Farbveränderungen wie auch der Normfarbe eines Organs erfolgt bis heute nur sehr subjektiv nach dem momentanen Farbeindruck des Obduzenten und nicht mit einer exakten naturwissenschaftlichen Methode. Die Gerichtsmedizin sucht deshalb nach experimentellen Wegen, diese Farbangaben zu objektivieren, wobei größtmögliche Genauigkeit in der Farbanalyse durch eine möglichst einfache Schnellmethode erreicht werden soll. In der vorliegenden Arbeit wird eine Farbbestimmung durch spektralphotometrische Extinktionsmessung an Organgefrierschnitten beschrieben, die eine exakte Darstellung des Organfarbbildes mit einfacher Methodik ermöglicht.

ALLGEMEINE ÜBERLEGUNGEN

1. DIE GRUNDIDEE ZU DIESER ARBEIT.

Das genaueste Verfahren zur Farbbestimmung ist die Spektralphotometrie. G. Lins vom Gerichtsmedizinischen Institut der Universität Frankfurt beschrieb eine Farbbestimmungsmethode mit der Remissionsspektrometrie und führte Farbanalysen an der lebenden und toten menschlichen Haut durch. Er benutzte also zur Farbbestimmung die spektralphotometrische Untersuchung des an der Oberfläche des Untersuchungsobjekts reflektierten Lichts. Dazu ist ein apparativer Aufwand nötig, der nicht jedem Institut zur Verfügung steht. Wir wollen deshalb eine neue spektralphotometrische Farbbestimmungsmethode an Organgefrierschnitten mit der wesentlich einfacheren Extinktionsmessung versuchen. Dabei wird zur Farbuntersuchung das bei Durchleuchtung des Gewebeschnitts transmittierte Licht herangezogen. Wir gehen davon aus, daß Gewebeschnitte die gleiche Farbart besitzen wie das Gesamtorgan. Deshalb müßten - konstante Schnittdicke vorausgesetzt - Farbqualität und -intensität eines Organs bei der Durchleuchtung und Extinktionsmessung des Schnittpräparates im Spektralphotometer bestimmt werden können. Das Spektralphotometer durchläuft kontinuierlich das gesamte Spektrum im Infrarot-, sichtbaren und UV- Bereich und mißt dabei die zu jeder Wellenlänge gehörende Extinktion. Die Ergebnisse werden mit Hilfe eines Direktschreibers in Form einer Extinktionskurve auf ein Diagrammblatt aufgezeichnet, wobei die Ordinate die Extinktionswerte und die Abszisse die zugehörigen Wellenlängen, also das gesamte durchlaufene Spektrum wiedergibt.

Aus der Lage der in der Extinktionskurve erwarteten Extinktionsmaxima bei bestimmten Wellenlängen erhofften wir qualitative Aufschlüsse über die Farbart,

aus der Höhe dieser Extinktionsmaxima, aus Kurvensteigung und Lage der Kurve in bestimmten Meßbereichen erwarteten wir quantitative Aufschlüsse über die Farbintensität.

Die Objektivierung dieser Farbkriterien sollte uns eine genaue Farbbestimmung ermöglichen. Wir erwarteten Unterschiede zumindest in einem der genannten Kriterien

1. zwischen den verschiedenen Organtypen (die Farbe der Leber ist anders als die der Niere);
2. zwischen gleichen Organen verschiedener Personen (die Farbe der Fettleber ist anders als die bei brauner Leberatrophie oder bei unveränderter Leber).

2. AUFGABENSTELLUNG.

Besonders diese letztgenannten Unterschiede wollten wir an einer größeren Versuchsreihe untersuchen und in Beziehung setzen

1. zur Erkrankungen bzw. pathologischen Veränderungen an den betreffenden Organen,
2. zur Todesursache,
3. zum Wortlaut des Sektionsprotokolls, wobei uns hier vor allem der Vergleich zu den subjektiven Farbeschreibungen und allgemeinen Angaben (z.B. Blutfülle, Flässe der inneren Organe) der Oduzenten interessierte, also die Frage nach der Richtigkeit solcher Angaben.

Aufgabe dieser Arbeit sollte sein,

1. unsere Idee auf ihre experimentelle Durchführbarkeit zu prüfen (ist eine genaue Farbbestimmung mit dieser Methode möglich ?)
2. Aus dem Versuchsmodell eine endgültige, praktikable Standardmethode zu entwickeln ;
3. über die Versuche von Lins hinaus die Farbbestimmung mit dieser Methode an zahlreichen Präparaten durchzuführen, um die erwähnten Fragen zu klären (Zusammenhänge zwischen Organfarbe und pathologischen Veränderungen, bzw. Todesursache, Richtigkeit der Farbangaben im Sektionsprotokoll).

Die ersten beiden Aufgaben sollten in den Vorversuchen gelöst, der dritte Punkt im Hauptteil der Arbeit geklärt werden. Es interessierte uns also vor allem die Leistungsfähigkeit solcher Farbbestimmungen, ihre diagnostischen Möglichkeiten und damit ihr praktischer Anwendungsbereich in Bezug auf pathologische und gerichtsmedizinische Fragestellungen. Unabhängig von der Ausgangsidee wollten wir die allgemeine Verwertbarkeit dieser Methode prüfen und auch etwaige andere experimentelle Möglichkeiten, falls sich solche in den Vorversuchen ergeben sollten, weiterverfolgen. Eine gewisse Diskrepanz zwischen Ausgangsidee und Ergebnissen war daher möglich.

3. VERSUCHSMODELL.

Wir wollten bei Sektionen Gewebeproben entnehmen, und zwar zunächst nur Leber, Herzmuskulatur und Nierenrinde und diese Gewebestücke zuschneiden auf die Größe von etwa $3 \times 1 \frac{1}{2} \times 1$ cm. Diese Maße ergeben sich aus der Lichtöffnung des Küvettenhalters im Strahlengang des Spektralphotometers. Diese Lichtöffnung, 2×1 cm groß, mußte natürlich vom Präparat voll bedeckt sein, ebenso wie es bei eingesetzten Küvetten der Fall ist. An das Präparat stellten wir folgende Bedingungen :

1. Die Gewebeprobe sollte möglichst immer aus der gleichen Stelle des betreffenden Organs entnommen werden. Zum Beispiel beim Herzmuskelpräparat: linker Ventrikel, Vorderwand. Bei der Leber : aus dem obersten Bereich der Leberkuppel. Bei der Nierenrinde: aus dem anterioren Bereich des oberen Nierendrittels der rechten Niere.
2. Es sollte sich um ein möglichst homogenes Gewebestück handeln, das - z.B. bei der Leber - nicht von großen Gefäßen durchzogen werden durfte.

Durch diese Bedingungen an das Ausgangsmaterial hofften wir, für alle Versuche gleiche Voraussetzungen geschaffen zu haben.

Das auf diese Weise entnommene und zugeschnittene Prä-

parat sollte dann auf dem Arbeitstisch des Gefriermikrotoms eingefroren werden. Die angefertigten Schnitte mußten nach der üblichen Methode in ein Wasserbad gelegt und aus diesem mit einer Nadel auf einen Objektträger gezogen werden. Die Objektträger wollten wir mit Hilfe eines Diamantglasschneiders auf passende Maße zuschneiden und in den Strahlengang des Spektralphotometers bringen. Wir stellten uns vor, die Objektträger in die vorgesehene Küvettenhalterung zu schieben, wollten aber diese praktischen Probleme bei den ersten Vorversuchen lösen. Dann sollten die Schnitte im Spektralphotometer vermessen und die Extinktionskurven aufgezeichnet werden und zwar im Bereich des sichtbaren und des UV-Spektrums.

Zum Anfertigen der Gefrierschnitte verwendeten wir das Leitz Gefriermikrotom Kryomat. Es setzt sich aus einer Kältemaschine mit Umwälzpumpen für die Kühlflüssigkeit Methanol und abstufbarer Temperaturregelung, sowie dem üblichen Schneidegerät zusammen, das aus Arbeitstisch und horizontal liegendem, drehbarem Messer besteht. Bei der Rückwärtsbewegung des Messers wird durch eine mechanische Übersetzung der Arbeitstisch nach oben geschoben und zwar um so mehr, je weiter das Messer zurückgedreht wird. Eine verstellbare Fixierung an einer Mikrometerskala bestimmt über die Messerarene bis zum Anschlag die Schnittdicke des Präparats. Das Gerät verfügt über Tisch- und Messerkühlung, die getrennt voneinander einschaltbar sind. Bei dem verwendeten Spektralphotometer handelt es sich um das Modell DK 2 von Beckmann.

Mit Hilfe eines Küvettenständers wird eine Küvette, bzw. in unserem Fall ein Schnittpräparat in den Strahlengang des Spektralphotometers gebracht und durchleuchtet. Das Licht dazu liefert im sichtbaren und Infrarotbereich eine Wolframlampe, im UV-Bereich eine Wasserstofflampe, die getrennt über eine Spiegelvorrichtung in den Strahlengang eingeblendet werden können. Das Präparat absorbiert aus dem auftreffenden Licht ganz bestimmte Wellenlängen ver-

stärkt, so daß diese im Spektrum des durchgelassenen Lichts fehlen, besser gesagt eine geringere Intensität aufweisen. Diese Wellenlängen bestimmen die Farbe des Präparats, denn Farbe ist nichts anderes als die Summe der nicht absorbierten Wellenlängen.

Wird keine Wellenlänge bevorzugt absorbiert, sondern alle etwa gleich, so erscheint das Objekt in weiß, der Summe aller Spektralfarben. Farbige Objekte dagegen absorbieren bestimmte Wellenlängen, bevorzugt aus dem Gesamtspektrum des weißen Lichts, so daß diese Spektralfarben im Spektrum des reflektierten oder transmittierten Lichts fehlen und das Objekt in der Komplementärfarbe erscheint - z.B. bei vermehrter Rotabsorption in grün. Die Intensitätsminderung der absorbierten Spektralfarbe bestimmt über entsprechende Zunahme der Farbintensität der Komplementärfarbe die Farbintensität des Objekts.

Das Spektralphotometer mißt die Lichtintensität jeder Wellenlänge und registriert damit den Intensitätsverlust jeder absorbierten Wellenlänge. Es beantwortet also sowohl die qualitative Frage nach der jeweils absorbierten Wellenlänge, als auch die quantitative Frage nach der Größe dieser Absorption, liefert uns sozusagen ein " Negativ " der anfangs erwähnten, gesuchten Kriterien der Organfarbe. Technisch funktioniert das so, daß das durchgelassene Licht mit einem Prisma in die Spektralfarben zerlegt wird (Punktabbildung des Lichtflecks der Küvettenöffnung im Prisma mit Hilfe einer Optik), die durch Drehung des Prismas nacheinander auf eine Photozelle treffen. Die Lichtintensität jeder auftreffenden Wellenlänge wird von der Photozelle in eine entsprechende Zahl freigesetzter Elektronen umgesetzt, die, im Photomultiplier verstärkt, einen entsprechenden Zeigerausschlag der Aufzeichnungsmechanik hervorrufen. Die Drehung des Prismas und damit die Einstellung der Wellenlänge vor der Photozelle ist kombiniert mit einer geeichten Wellenlängenskala am Gerät und kann sowohl manuell als auch mit Hilfe eines Motors - dabei sehr gleichmäßig und mit verschiedenen Geschwindigkeiten (= scanning time) -

durchgeführt werden.

Das Durchlaufen mit verschiedenen Geschwindigkeiten ändert prinzipiell nichts, hat aber praktische Bedeutung für die Genauigkeit der mechanischen Aufzeichnung. Durch die Schreiberträchtigkeit wird die Höhe der Ausschläge umso exakter wiedergegeben, je langsamer und zeitraubender " gefahren " wird. Prismadrehung und Wellenlängeneinstellung können über eine Kupplung mit der Schreibermechanik gekoppelt werden. Während die verschiedenen Wellenlängen an der Photozelle vorbeiwandern, fährt der Schreiberschlitten über das Schreibblatt von rechts nach links und zeichnet die Schreiberausschläge in einer Kurve auf. Durch Einstellung der Kupplung auf 1 x oder 2 x läßt sich die Schlittengeschwindigkeit unabhängig von der Prismadrehung einfach oder doppelt wandern, was bei gleicher Laufzeit zu verschiedener Skalenspreizung, d.h. zu verschiedener Dehnung der Kurve führt.

Mißt man mit dem Gerät Transmission, dann bekommt man eine Kurvendarstellung der oben erwähnten Absorptionsmessung (bei Absorption einer Wellenlänge Zeigerausschlag nach unten). Wir benutzten für unsere Versuche die Extinktionsmessung. Die Extinktion $E = \frac{I}{I_0}$, wobei I die Intensität des auftreffenden, I_0 die Intensität des durchgelassenen Lichts ist. Da I im Gerät konstant ist, führt eine Verringerung von I_0 bei der Absorption nach der Gleichung zu einer Vergrößerung der Extinktion. Deshalb erhalten wir im Wellenbereich maximaler Absorption ein Extinktionsmaximum und einen Zeigerausschlag nach oben. Die Transmission ist proportional dem I_0 , die Extinktion dem $\frac{1}{I}$, also der Absorption. Während der Ausmessung eines Präparats wird im dauernden Wechsel des Strahlengangs von einer Öffnung des Küvettenständers (Meßöffnung für das Präparat) auf die andere (Vergleichsöffnung für die Leerküvette) eine Vergleichsmessung mit dem Normalspektrum der Wolfram- bzw. Wasserstofflampe durchgeführt. Mit einer Leerküvette oder einem leeren Objektträger in der Vergleichsöffnung kann man den uner-

wünschten Einfluß des Glases weitgehend ausschalten. So erhält man nur die Änderungen im Spektrum, die durch das Präparat allein entstehen.

Für die Extinktionsmessung existieren 3 Meßbereiche (0 - 1, 0,5 - 1,5 , 1-2), die über einen Schalter auf das Schreibblatt projiziert werden können und die vollständige Aufzeichnung der Extinktionskurven ermöglichen. (Wenn die E- Werte über die Meßbereichsgrenzen hinaus schwanken, z.B. zwischen 0,8 und 1,7 , muß anfangs der Meßbereich 0,5 - 1,5 eingestellt werden. Schlägt der Schreiber bei Überschreitung des E- Wertes 1,5 an die obere Begrenzung der Schreibskala, kann die Kurve nur weiter aufgezeichnet werden, wenn auf den höheren Meßbereich umgeschaltet wird).

VORVERSUCHE

1. DURCHFÜHRUNG DER ERSTEN VERSUCHE .

Wir entnahmen bei der Sektion Nr. 248/72 ein möglichst homogenes Stück Leber, das wir auf die erwähnten Maße zuschnitten. Dazu verwendeten wir bei allen Versuchen ein scharf geschliffenes Sektionsmesser, um Fehler durch Herauspressen von Flüssigkeit (z.B. Blut) aus dem Parenchym weitgehend auszuschalten.

Nach dem Einfrieren des Präparats auf -30°C versuchten wir Schnitte anzufertigen, wobei zuerst das Messer auf Raumtemperatur belassen wurde. Die Schnitte waren unsauber und verklebten wegen des zu raschen Auftauens. Die Versuche mit eingeschalteter Messerkühlung ergaben wesentlich bessere Ergebnisse, sodaß wir für alle weiteren Versuche sowohl mit Tisch- als auch mit Messerkühlung arbeiteten. Die Schneidetemperatur - an der Kältemaschine vorwählbar - ist für das Gelingen eines guten Schnittes von großer Bedeutung. Bei zu hoher Schnitttemperatur ist das Präparat zu weich, die Schnitte werden unsauber und verkleben. Bei zu niedriger Temperatur wird das Material zu spröde und bricht. Die Wahl der optimalen Temperatur ist abhängig von der Zimmertemperatur, vom Schnittmaterial, von der Schnittdicke, vom Zustand des Messers (z.B. eingeschaltete Messerkühlung oder nicht), von der beabsichtigten Weiterverarbeitung des Schnitts.

Wir testeten die optimale Schneidetemperatur, die für unseren Zweck bei etwa -20°C lag, (zwischen -15° und -25°). Für alle weiteren Versuche galten folgende Regeln : Schnelles Einfrieren des Präparats bis -30°C , wobei nur der Arbeitstisch gekühlt wurde, dann erst Zuschalten der Messerkühlung und Zurückregeln der Temperatur auf Arbeitsbedingungen. Bei dieser Methode erhielten wir sehr gleichmäßige Schnitte von guter Beschaffenheit.

Das Hauptproblem der Anfangstests war, die für unseren Zweck richtigen Schnittdicken herauszufinden, wobei wir von folgenden Überlegungen ausgingen :

Einen grundsätzlichen Einfluß auf die Versuchsergebnisse kann die Schnittdicke nicht haben, da die Farbqualität ohnehin gleich bleibt und die Farbtintensität sich proportional zur Schnittdicke ändert. Es ergeben sich jedoch obere und untere Grenzen für die Schnittdicke d aus dem Meßbereich des Spektralphotometers und den Möglichkeiten des Gefriermikrotoms. Die Extinktionswerte zu dünner Schnitte liegen unterhalb der Meßgenauigkeit des Spektralphotometers, zu dicke Schnitte sind praktisch lichtundurchlässig, d.h. I_0 wird 0 und damit E unendlich groß. Das Mikrotom setzt vor allem Grenzen nach unten, die bei etwa 5μ liegen. Schnittdicken in diesem Bereich - in der Mikroskopie durchaus üblich - sind für unsere Zwecke viel zu klein.

Denn erstens lassen sich diese großen, einheitlichen Flächen ohne Löcher, wie wir sie benötigen (mindestens $1 \times 2 \text{ cm} !$), bei so kleinem d unmöglich herstellen (in der Mikroskopie genügen ja einige Fetzchen oder löcherige Flächen des Präparats). Zweitens sind die Schneidefehler prozentual sehr groß, da Abweichungen von der Schnittdicke umso mehr ins Gewicht fallen, je dünner die Schnitte sind. (Für vergleichende Farbanalysen ist die für alle Versuche exakt gleiche Schnittdicke Voraussetzung). Drittens ist die Gefahr des Dehnens der Schnitte (beim Aufziehen auf Objektträger etc.) und damit weiterer Fehlerquellen in Bezug auf die Farbtintensität bei dünnen Schnitten wesentlich größer als bei dicken.

Aus diesen Gründen sind sicher nur Schnittdicken über 20μ sinnvoll. Ganz allgemein muß d einerseits so klein sein, daß auch bei größtmöglicher Farbtintensität eines Präparats die Extinktionswerte innerhalb des Gesamtmeßbereichs liegen, andererseits aber so groß wie möglich wegen der oben angegebenen Fehlerquellen.

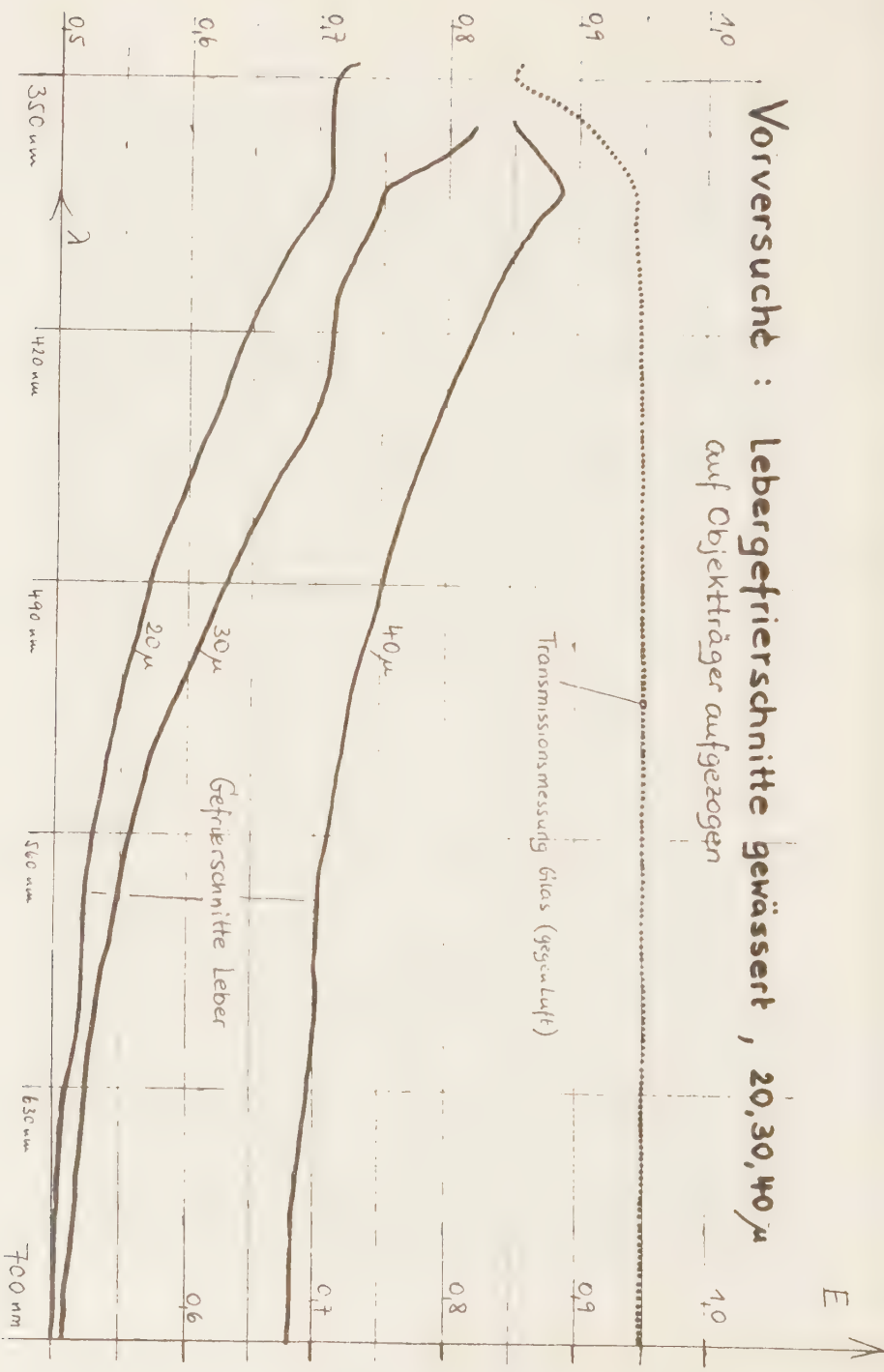
Auf der Suche nach dieser optimalen Schnittdicke stellten wir zunächst zur Orientierung je drei Schnitte von 20, 30 und 40 μ her. Die Schnitte wurden mit einer Präpariernadel aufgenommen, in ein Wasserbad gelegt, mit einem Glasstab entrollt und nach der üblichen Methode mit der Präpariernadel auf mit Eiweißglycerin beschichtete Objektträger aufgezogen.

Dann schnitten wir die Objektträger mit einem Diamantglas-schneider auf die richtige Größe zu. Da es manuell schwierig ist, die Objektträger genau auf die Maße der Küvettenhalterung im Küvettenstander zuzuschneiden, verzichteten wir auf die ursprünglich vorgesehene Möglichkeit, die Objektträger in den Küvettenhalter zu schieben und klebten sie statt dessen mit Tesafilm vor die vordere Lichtöffnung des Küvettenstanders. Da sich der Küvettenhalter unmittelbar hinter dieser Lichtöffnung befindet und bei beiden Methoden das Präparat nicht genau in der mittleren Ebene des normalen Küvettenstandpunkts liegt, ist bei beiden Methoden der Fehler etwa gleich groß, aber wohl doch so klein (Abstand von der mittleren Küvetteebene etwa 5 mm), daß er ohne Einfluß auf die optische Abbildung des Präparats auf die Photozelle bleibt. (Selbstverständlich wurde der Objektträger mit dem Präparat nach außen vor die Lichtöffnung geklebt, damit das Präparat nicht durch Berührung mit dem Küvettenstander zerstört werden könnte. Außerdem befestigten wir den Klebestreifen natürlich nur an den Rändern des Objektträgers, so daß sich über der Lichtöffnung nur Glas und Präparat befanden) .

Als erste Meßung führten wir eine Transmissionsmeßung des leeren Glases gegen Luft durch. Die aufgezeichnete Gerade zeigt, daß die Transmission bei allen Wellenlängen von 700 nm bis 370 nm gleich niedrig ist. Im UV-Bereich von 370 nm abwärts sinkt sie erwartungsgemäß mit der steigenden Absorption des Glases bei kürzeren Wellenlängen.

Bei allen weiteren Meßungen führten wir eine Extinktionsmeßung der einzelnen Präparate gegen Glas (leerer Objekt-

Vorversuch : Lebergefrierschnitte gewässert , 20,30,40 μ auf Objektträger aufgezogen



träger) im Wellenbereich von 700 nm bis 350 nm und im UV-Bereich von 350- 285 nm durch. Bei diesen Messungen ergab sich bei keiner der drei Schnittdicken bei irgendeiner Wellenlänge ein Extinktionsmaximum. Die Präparate erschienen also in den Kurven " farblos ". Mit abnehmen der Wellenlänge stiegen die Kurven stetig an, was in der zunehmenden Absorption des Präparats bei kürzeren Wellenlängen begründet ist, außerdem knickten sie einheitlich bei etwa 370 nm ab. Das ist die Grenze des sichtbaren Bereichs, die Grenze der Wolframlampe. Wir erklärten diese ergebnislosen Kurven so, daß die Farbintensität unserer Schnitte noch unterhalb der Meßgenauigkeit des Spektralphotometers lag. Eine höhere, vom Gerät registrierbare Farbintensität kann erreicht werden

1. durch dickere Schnitte : Unsere Orientierungsschnittdicken lagen offensichtlich noch unterhalb der für diesen Zweck erforderlichen optimalen Schnittdicke;
2. durch kürzere Wässerungszeiten. Es hat sich gezeigt, daß durch das Entrollen und Aufziehen der Schnitte im Wasserbad " Farbe " aus dem Gewebe herausgelöst wurde. Man wird deshalb die Wässerungszeiten so kurz wie möglich halten, d.h. nicht zuerst alle Schnitte schneiden und wässern und dann in einem Arbeitsgang aufziehen, sondern jeden einzelnen Schnitt sofort entrollen und aufziehen.

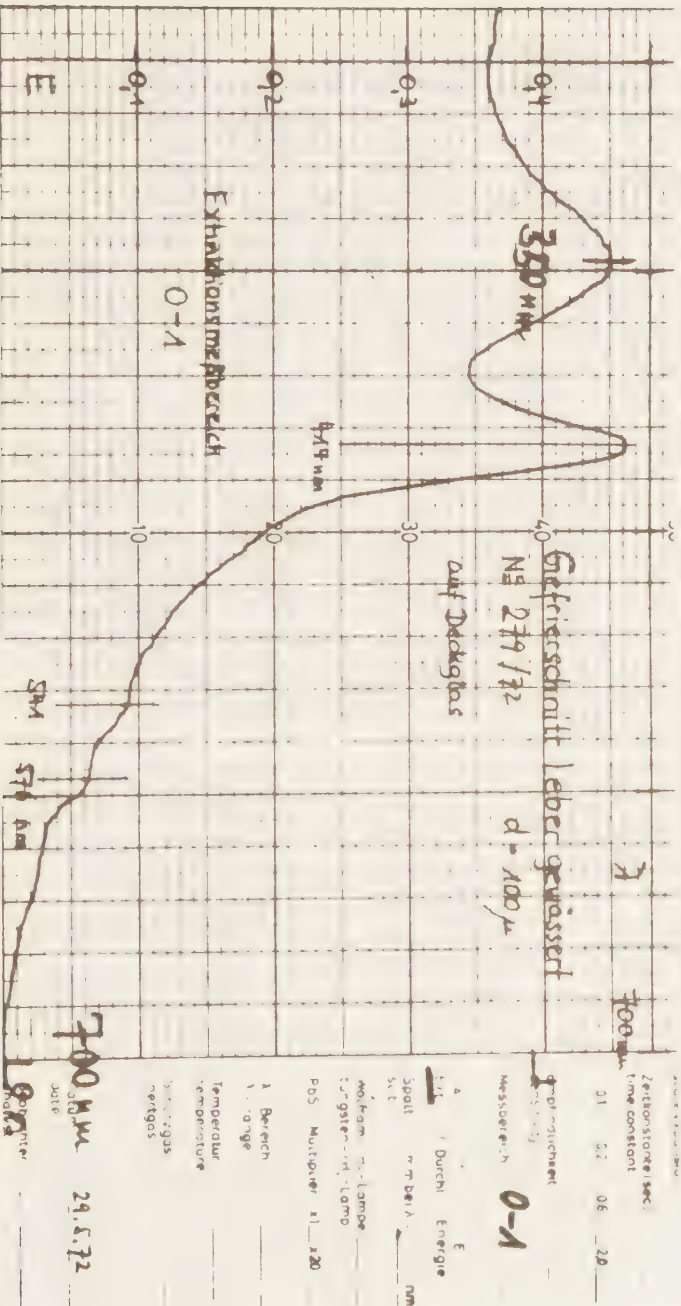
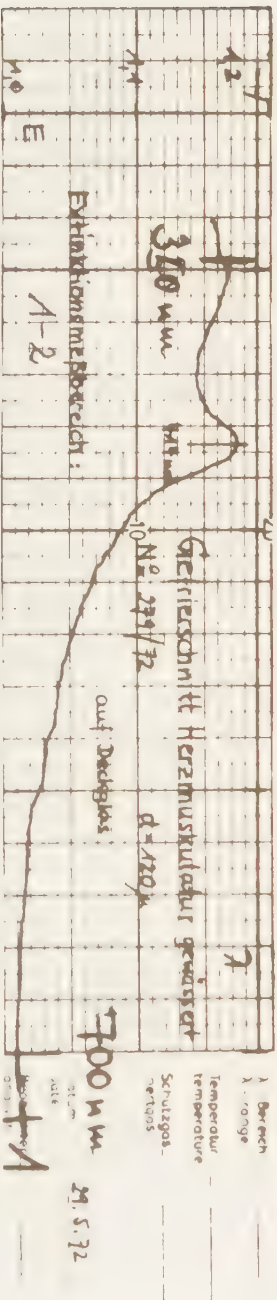
2.ENTWICKLUNG DER METHODE.

Die Schwierigkeit für die weiteren Versuche bestand darin, daß den erforderlichen dickeren Schnitten durch die ohnehin schon hohe Absorption enge Grenzen gesetzt waren. Die geringe Lichtdurchlässigkeit geht, wie die Transmissionsmeßung am Anfang gezeigt hat, erheblich zu Lasten des Objektträgerglases. Es handelt sich dabei um ganz normales Fensterglas mit hohen Absorptionsraten und nicht um das bei den Küvetten verwendete Quarzglas. Da Quarzglasobjektträger in der benötigten großen Zahl nicht zur Verfügung standen,

konnten wir die hohe Absorption nur durch geringere Glasdicken herabsetzen und wir entschlossen uns, bei den nächsten Versuchen statt der Objektträger Deckgläser zu verwenden. Wir wollten also mit größeren Schnittdicken, kürzeren Wässerungszeiten und Deckgläsern weiterarbeiten. Bei der Sektion Nr. 279 entnahmen wir Leber und Herzmuskulatur und fertigten Schnitte an (Leber: 80 u. 100 μ Herz: 100 u. 120 μ), die wir einzeln und sofort aus dem Wasserbad auf mit Eiweißglycerin beschichtete Deckgläser besonderer Größe (5 x 2,4 cm) aufzogen. Die hohe Zerbrechlichkeit dieser Gläser erschwerte zwar das Arbeiten, hatte aber den Vorteil, daß das umständliche Zuschneiden mit dem Glasschneider wegfiel. Wenn überhaupt erforderlich, mußten die Deckgläser allenfalls etwas gekürzt werden, was sich sehr einfach und schnell durch Abbrechen an einer scharfen Tischkante durchführen ließ. Das Kleben des Präparats sowie des leeren Vergleichsdeckglases vor die Öffnungen des Spektralphotometereinsatzes erfolgte in gleicher Weise wie bei den Objektträgern.

Dann vermaßen wir alle Schnitte im Photometer und zeichneten die Extinktionskurven auf. Wir versuchten die Aufzeichnung einzelner Schnitte zweimal, nämlich mit einfacher und doppelter Skalenspreizung. Das " Dehnen " der Kurve bei doppelter Skalenspreizung, wie es z.B. bei vielen eng beieinander liegenden Maxima günstig sein mag, erbrachte für unsere Zwecke keine Vorteile, sodaß wir alle weiteren Tests mit einfacher Skalenspreizung durchführten. Die Erprobung verschiedener Schreibzeiteinstellungen bei den ersten Versuchen ergab, daß scanning-time 10 für unseren Zweck in Bezug auf Aufzeichnungsgenauigkeit und Zeitaufwand optimal ist, sodaß wir diese Einstellung künftig beibehielten.

Diesmal erbrachten alle Schnitte ein Ergebnis in Form einer Extinktionskurve mit drei Maxima im sichtbaren Bereich, das aber in qualitativer und quantitativer Hinsicht unerwartet war. Deshalb überprüften wir es durch weitere Versuche mit



genau gleicher Methodik aber zahlreicheren Schnitten von Leber und Herzmuskulatur (60, 80, 100, 120 u. 150 μ) Zusammenfassend lassen sich folgende Ergebnisse feststellen:

1. Das Arbeiten mit Deckgläsern senkte die Gesamtab-sorption erheblich und ermöglichte die Verwendung dickerer Schnitte, die für die Farbanalyse verwertbare Extinktionskurven lieferten. Die Deckgläser haben sich auch in Bezug auf praktische Probleme (Zuschneiden etc.) bewährt und sollen für alle weiteren Versuche verwendet werden.
 2. Die optimale Schnittdicke ist noch nicht endgültig gesichert, dürfte aber im Bereich von 80 bis 100 μ liegen. Sie wird von einem Organ zum anderen verschieden sein, denn es hat sich gezeigt, daß z.B. Herzmuskulatur zwar stärker insgesamt absorbiert als Leber (Meßbereich Leber teilweise 0-1, Herz 1-2), aber die Extinktionsmaxima niedriger sind. Dazu kommt, daß bei gleicher Schnittdicke Herzmuskelschnitte schlechter zu schneiden und schwerer auf-zuziehen sind.
 3. Das qualitative Versuchsergebnis ist für alle Schnitte gleich, nämlich eine Extinktionskurve mit drei Extinktionsmaxima im sichtbaren Bereich, einem großen bei 414 nm, das wir Maximum I nennen wollen und zwei kleineren bei 541 (= Maximum II) und 576 nm (= Maximum III), sowie zwei E- Maxima im UV-Bereich bei 275 und 350 nm. Die fünf Maxima stellen das Hä-moglobinspektrum dar und zwar das Spektrum des sauer-stoffgesättigten, also des O₂- Hämoglobins.
- Es ist nicht überraschend, daß die Gewebeschnitte Blut enthalten und deshalb in unseren Extinktionskurven das Hb-Spektrum auftaucht; das Unerwartete daran ist, daß es in allen Fällen ein reines Blutspektrum ist und weitere Extinktionsmaxima, durch andere Farbkomponenten oder die Eigenfarbe des Organs hervorgerufen, fehlen. Wir werden auf dieses Ergebnis noch zurückkommen.

4. Bei gleichem qualitativem Ergebnis für alle Schnitte

erhalten wir erhebliche quantitative Unterschiede

a) in Bezug auf die Kurvenlage in bestimmten Extinktionsbereichen,

b) in Bezug auf die Höhe der Extinktionsmaxima.

Diese Unterschiede betreffen alle drei Maxima des sichtbaren Bereichs in gleicher Weise, d.h. besitzt ein Schnitt ein kleineres Maxima I als die anderen, so sind auch die Maxima II u. III entsprechend verringert.

Die Unterschiede bei a) entsprechen unterschiedlichen Höhen der Gesamtabsorption, die bei b) unterschiedlichen Absorptionsraten bei den Wellenlängen des Hb, also dem unterschiedlichen Hb-Gehalt der Schnitte.

Wir erhalten diese Unterschiede zwischen Schnitten von Leber und Herzmuskulatur: Wie schon erwähnt, liegen a) die Kurven der Herzmuskelschnitte entsprechend der höheren Gesamtabsorption in höheren Extinktionsbereichen als die der Leberschnitte. Ausserdem sind b) die Extinktionsmaxima gleich dicker Herzmuskelschnitte niedriger als die der Leberschnitte, gemäß dem geringeren Hb-Gehalt der Herzmuskulatur.

Die quantitativen Unterschiede in Kurvenlage und Höhe der Maxima müßte man auch bei verschiedenen Schnitttdicken d des gleichen Organs (z.B. Leber) erwarten. (Proportionalität zwischen E u. d nach dem Extinktionsgesetz).

Mit größerem d sollten die Schnitte

a) allgemein stärker absorbieren und eine höhere Kurvenlage aufweisen,

b) entsprechend mehr Hämoglobin enthalten und damit höhere Extinktionsmaxima besitzen. Zwei gleich dicke Schnitte von dem selben Lebergewebe müßten identische Extinktionskurven besitzen.

Das alles trifft auf unsere Ergebnisse nur grob zu. Weder liegen die Kurven mit steigender Schnittdicke (20, 40, 100 μ u.s.w.) exakt übereinander, noch nimmt die Höhe der Extinktionsmaxima zunehmend mit steigender Schnittdicke zu. Ebenso zeigen zwei 100 μ -Schnitte der Leber erhebliche

Unterschiede in Kurvenlage und Höhe der Extinktionsmaxima, obwohl sie darin übereinstimmen müßten.

Nachdem Schneidefehler bei diesen Schnittdicken wohl auszuschließen sind, kommen als Ursachen in erster Linie unterschiedliche Wässerungszeiten (mit unterschiedlichen aus dem Schnitt gelösten Farbstoffmengen) und das Dehnen mancher Schnitte bei unvorsichtigem Aufziehen in Frage. Trotzdem wir die Wässerungszeiten bei den letzten Versuchen so kurz wie möglich und auch annähernd gleich gehalten hatten, fallen die geringen Zeitunterschiede offensichtlich so stark ins Gewicht, daß ihr Einfluß auf die Farbinintensität dem der Schnittdicke nahe kommt.

Bei den nächsten Tests untersuchten wir den Zusammenhang zwischen Schnittdicke, Wässerungszeit und Extinktionswert, indem wir mit Hilfe einer Stoppuhr genau gleiche Wässerungszeiten einhielten. Wir wählten dazu eine Zeit (1 min.), in der es normalerweise immer gelingt, einen Schnitt aufzuziehen und verwarfen die mißlungenen Schnitte. Wir fertigten zwei Meßreihen an, eine mit verschiedenen Schnittdicken bei gleicher Wässerungszeit (80, 100, 120, 150 u. 200μ in 1 min.) und eine mit gleicher Schnittdicke bei verschiedenen Wässerungszeiten (120μ bei 0,5, 1, 1,5 und 2 Minuten) und führten die Meßungen mit Leber und Herzmuskulatur durch.

Wie aus den übereinander auf ein Blatt aufgezeichneten Kurven jeder Meßreihe hervorgeht, gelang es, die Zusammenhänge zwischen Wässerungszeit, Schnittdicke und Extinktion aufzuzeigen.

Bei 1 Minute Wässern liegen die Extinktionskurven mit steigender Schnittdicke übereinander. Ebenso nimmt die Höhe der Maxima mit der Schnittdicke zu. Ein entsprechendes Ergebnis liefert die Meßreihe mit konstantem d, wobei die Kurven mit verringerter Wässerungszeit übereinander liegen und die Höhe der Maxima mit kürzeren Wässerungszeiten wächst, als Zeichen dafür, daß weniger Hb aus dem Schnitt herausgelöst wird und die Farbinintensität des Schnitts größer ist. Damit steht fest, daß Kurvenlage und Höhe der Maxima sowohl von

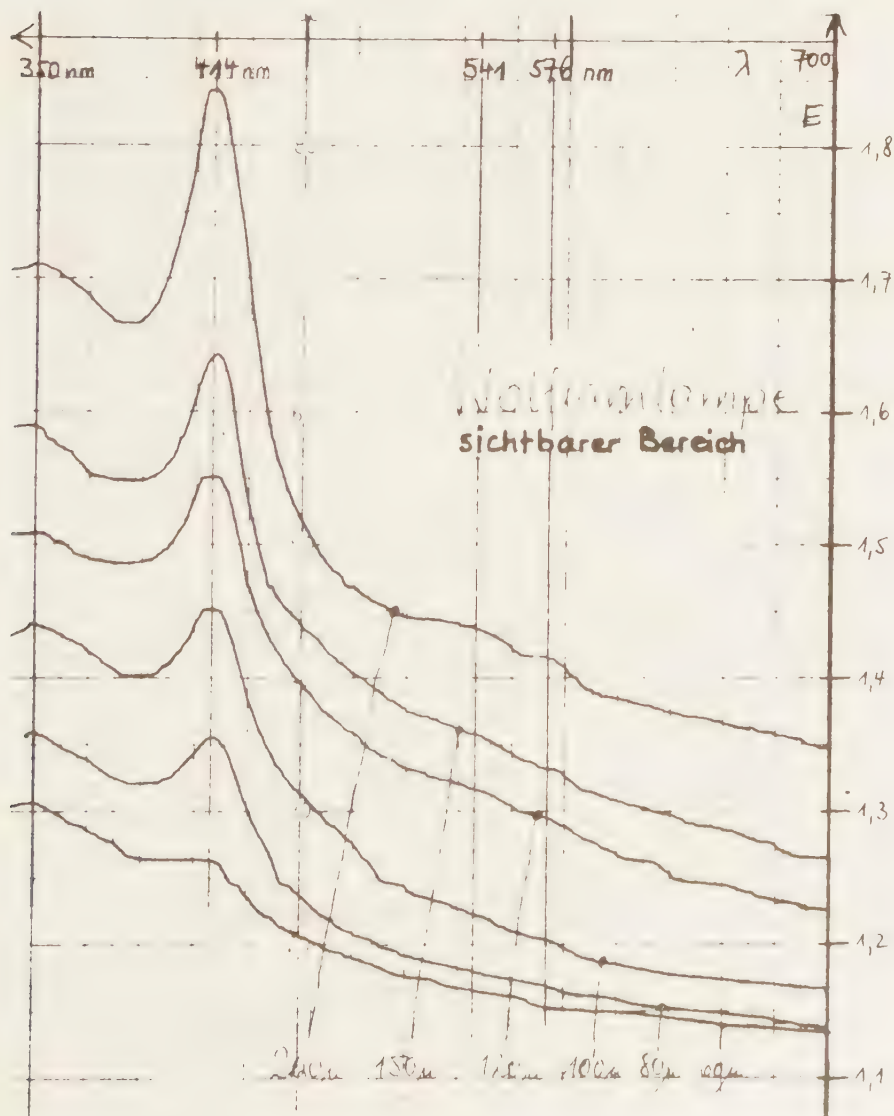
GEFRIERSCHNITTE HERZMUSKULATUR Nr. 294 / 72 (12.6.72)

$d = 60, 80, 100, 120, 150, 200 \mu$

Wässerungszeit : 1 min.
Stoppuhr

E-Bereich 1-2

Deckgläser



der Schnittdicke wie auch von der Wässerungszeit abhängen. Da sich die Kurvenlage nicht so eindeutig in Abhängigkeit von diesen beiden Kriterien darstellen läßt, kann man vermuten, daß noch andere Faktoren die Lichtdurchlässigkeit beeinflussen, z.B. die Streuung des Lichts an der Oberfläche des Präparats oder am Glas. Je rauher eine Oberfläche und je matter das Präparat ist, umso größer ist die Streuung und umso höher liegt die Extinktionskurve. Auch das Glas kann über unterschiedliche innere Struktur verschieden stark streuen. Diese Faktoren lassen sich nicht genau erfassen, vor allem die Oberflächenstruktur des Schnitts nicht, die unter anderem vom Austrocknungszustand und auch wieder von der Wässerungszeit abhängt (einerseits löst das Wasser absorbierende Materialien z.B. Eiweiß aus dem Präparat und setzt dadurch die Absorption herab- andererseits erzeugt dieses Auswaschen eine besonders rauhe und damit stark streuende Oberfläche). Aus diesen Gründen läßt sich die Lage der Extinktionskurven in bestimmten Extinktionsbereichen nicht zu Aussagen über die Farbintensität heranziehen.

Die Höhe der Extinktionsmaxima wird dagegen erwartungsgemäß exakt von der Farbstoffkonzentration, in diesem Fall vom Hb-Gehalt des Schnitts bestimmt. Deshalb verändern Schnittdicke und Wässerungszeit über eine Änderung des Hb-Gehalts auch genau die Höhe der Maxima. Bei konstanter Schnittdicke und konstantem herausgelösten Farbstoffanteil könnte man über die Maxima den Hb-Gehalt bestimmen und vergleichende Untersuchungen über den Durchblutungszustand der Organe anstellen.

Auf der Suche nach der idealen Schnittdicke für Leber und Herzmuskulatur verglichen wir bei den letzten Versuchsreihen die verschiedenen Schnittdicken auf folgende Kriterien hin :

1. deutliche Kurve, alle 3 Maxima vorhanden;
2. die Kurve muß ganz im Meßbereich liegen;
sie soll nicht an den Meßbereichsgrenzen liegen;
3. der Schnitt muß leicht und schnell und mit konstanter Schnittdicke anzufertigen sein.

Danach beträgt die optimale Schnittdicke für Leber 80 für Herzmuskulatur 100μ , bei Wässerungszeiten von 1 Minute. (Das Beschichten der Deckgläser mit Eiweißglycerin - wie das Wässern aus der Mikroskopie übernommen - wollten wir für die weiteren Versuche fallen lassen und mit sauberen Deckgläsern arbeiten, um mögliche Störeffekte und Ungenauigkeiten durch unterschiedliche Absorption und Streuung zu vermeiden. Das Eiweißglycerin brachte keine Vorteile, die Schnitte hafteten nach kurzem Antrocknen auch auf dem blanken Glas sehr gut).

Trotz der befriedigenden Ergebnisse der letzten Versuchsreihen in Bezug auf die Wässerungszeiten stellt das Wässern der Schnitte immer einen Ungenauigkeitsfaktor dar, denn unter Standardbedingungen müßte die Menge der herausgelösten Substanz für jeden Schnitt exakt gleich sein. Das aber wird allein durch gleiche Wässerungszeiten nicht garantiert, weil diese Substanzmenge zusätzlich noch von anderen Faktoren abhängt, z.B. von den Bewegungen des Schnitts im Wasser (" Wellenschlag ") oder der Art und Geschwindigkeit des Herausziehens aus dem Wasser (heftiges Herausziehen löst " Farbwolken " ab). Diese Faktoren erreichen bei geschickter Arbeitsweise sicher nicht die quantitative Bedeutung der Wässerungszeit, sind aber im Gegensatz zu ihr nicht exakt erfaßbar.

Deshalb wäre es günstig, für unsere Versuche auf das Wässern ganz zu verzichten und damit alle Ungenauigkeiten zu beseitigen. Das setzt aber eine neue Methode voraus, die gerollten, gefrorenen Schnitte direkt auf das Glas aufzuziehen, eine Methode, die wir in den nächsten Versuchen erproben wollten.

Bei den nächsten Tests versuchten wir, die Gefrierschnitte ohne zu wässern direkt auf die Deckgläser zu übertragen, indem wir die gerollten, gefrorenen Schnitte mit einer Präpariernadel vom Messer des Gefriermikrotoms aufnahmen und auf dem Deckglas mit der Nadel entrollten. Das saubere Entrollen ist ohne Beschädigung und Dehnung nur mit einem gefrorenen Schnitt möglich, denn er ist hart und zugfest und

und die Eisschicht zwischen den gerollten Schnittflächen verhindert das Verkleben. (Nach dem Auftauen wird der Schnitt weich und dehnbar und verklebt - verminderte Zugfestigkeit bei erforderlichem höherem Zug beim Entrollen-, sodaß ein Dehnen unvermeidlich ist).

Es ist deshalb erforderlich, den Schnitt so lange wie möglich - mindestens bis zum Entrollen - gefroren zu halten. Nach dem Schneiden bleibt er durch die Messerkühlung auf Arbeitstemperatur ; das Problem beginnt jedoch beim Aufnehmen: warme Nadel und Umgebung sorgen für einen raschen Temperaturanstieg im Gewebe und es gelingt nur durch schnelles Übertragen, den Schnitt vor Einsetzen des Tauvorgangs auf das Deckglas zu bringen. An der Berührungsstelle mit dem Glas taut der Schnitt sofort, weshalb man mit einer einzigen Nadelbewegung den Schnitt aufsetzen und entrollen muß, um - vor der sich rasch ausbreitenden Taugrenze " weglaufend " - das Präparat noch gefroren aufziehen zu können. Ein solches Arbeiten, - unmöglich unter den Bedingungen der Mikroskopie- wurde durch folgende Voraussetzungen gestattet:

1. Das Arbeiten mit der Messerkühlung hält den Schnitt bis zum Aufnehmen tiefgefroren.
2. Die verwendeten großen Schnittdicken verlangsamten das Erwärmen, verlängern die Auftauzeit.
3. Die tiefen Arbeitstemperaturen verlängern ebenfalls die Aufwärmzeit. Wir mußten für gute Schnitte die Temperatur sogar noch senken auf -25°C .
4. Erst die Festigkeit sehr dicker Schnitte erlaubt das direkte Aufrollen mit der Nadel. Die Mindestschnittdicke für Herz und Leber ist 80μ , bei günstigen Präparaten vereinzelt auch 60μ .

(Durch die größere Farbintensität ohne wässern hätte man die Schnittdicken verringern können - entsprechend den schon genannten Kriterien- aber wegen der Punkte 2. und 4. mußten wir bei den optimalen Schnittdicken für das Wässern bleiben : 80μ für Leber, 100μ für Herzmuskulatur). Selbst unter den genannten günstigen Voraussetzungen stehen für Übertragen und Entrollen nur etwa 2 Sekunden zur Verfügung, die aber mit Schnelligkeit, etwas Geschicklich-

keit und einem durch viel Übung eingespielten, optimalen Bewegungsablauf ausreichen.

Nach etwa 50 Versuchsschnitten, die meist schon vor dem Entrollen tauten, gelangen die ersten Präparate in optimaler Weise. Die Schnitte, die verworfen werden mußten, nahmen mit steigender Übung rasch ab, auf etwa 20 bis 30 %. Sie wurden durch die erheblichen Vorteile der gelungenen Schnitte gegenüber der Wässerungsmethode gerechtfertigt :

1. Im Gegensatz zum Wässern sind die Schnitte völlig unverändert, ihre Zusammensetzung ist identisch mit der des entnommenen Gewebestückes.
2. Wir erhalten standardisierte Versuchsbedingungen durch Wegfall der Fehlerquellen beim Wässern.
3. Ein Dehnen etc. ist bei den gelungenen Schnitten - im Gegensatz zum Wässern - ausgeschlossen.

Die Kurvenbeispiele von Leberschnitten mit steigender Schnittdicke (60, 80, 100 μ) zeigen die exakte Abhängigkeit der Extinktionsmaxima von der Schnittdicke. Bei konstanter Schnittdicke müßten die Unterschiede zwischen verschiedenen Organpräparaten in Form unterschiedlich hoher E-Maxima hervortreten und so vergleichende Untersuchungen möglich machen. Wir testeten die direkte Aufziehmethode zur Übung einige Zeit durch, und fertigten dabei nun auch Nierenschnitte an. Die Nierenrindenpräparate ließen sich viel besser schneiden und aufziehen als Herz und Leber, weshalb wir hier mit Standardschnittdicken von 60 μ arbeiten konnten.

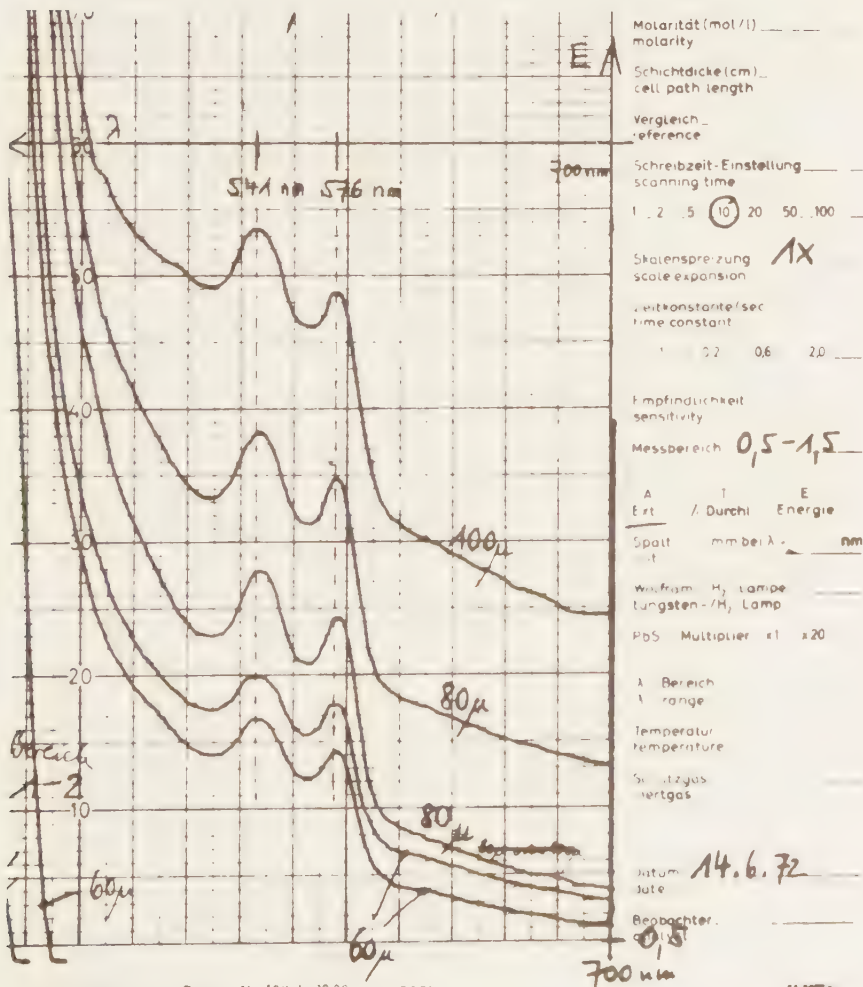
Die ersten Schnitte quer zur Nierenrinde bedeckten die Lichtöffnung nicht völlig (zu schmal !) , sodaß wir für die weiteren Versuche Parallelschnitte zur Organoberfläche, aus dem mittleren Drittel der Rinde, verwendeten.

GEFRIERSCHNITTE LEBER Nr. 310 / 72 (14.6.72)

$d = 60, 80, 100 \mu$, ohne Wässerung direkt auf Deckgläser aufgezogen;

E-Bereich 0,5 - 1,5 und 1 - 2

exakte Proportionalität zwischen Schnittdicke und Höhe der Extinktionsmaxima !



3. ERGEBNISSE DER VORVERSUCHE.

Wir hatten uns in den Vorversuchen die Aufgabe gestellt, die Grundidee dieser Arbeit, eine Organfarbbestimmung an Gefrierschnitten mit der Extinktionsmethode im Experiment zu überprüfen und aus unserem Versuchsmodell eine Standardmethode zur Routinefarbbestimmung zu entwickeln.

1. Es hat sich gezeigt, daß eine Organfarbbestimmung an Gefrierschnitten mit der Extinktionsmethode möglich ist. Die aufgezeichneten Extinktionskurven gestatten die Farbbestimmung durch exakte Messung der Farbkriterien: Die Lage der Extinktionsmaxima bestimmt die absorbierten Wellenlängen, die zusammen das qualitative Kriterium der Farbart oder " Farbvalenz " ergeben.

Die Höhe der Extinktionsmaxima, als Maß der verminderten Lichtintensität der absorbierten Spektralfarben bestimmt die Farbintensität.

Bei Standardbedingungen stimmen gleiche Schnitte aus demselben Gewebe in diesen Farbkriterien exakt überein, während Änderungen im Präparat Veränderungen der Extinktionskurven ergeben und so Vergleichsanalysen zwischen verschiedenen Organpräparaten ermöglichen.

2. Für diese Organfarbbestimmung entwickelten wir aus unserem Versuchsmodell folgende Standardmethode :
 - a) Entnahme des Präparats in beschriebener Weise aus den im Versuchsmodell angegebenen Organgebieten. Vorsichtiges Zuschneiden mit scharfem Sektionsmesser auf die Maße der Lichtöffnung im Spektralphotometer.
 - b) Anfertigen der Gefrierschnitte nach der angeführten Methode, bei eingeschalteter Tisch- und Messerkühlung. Die Arbeitstemperatur liegt bei $- 25^{\circ}\text{C}$. Standardschnitticken für Nierenrinde 60μ , Leber 80μ , Herz 100μ .
 - c) Aufziehen der Schnitte auf Deckgläser durch direktes Aufrollen in gefrorenem Zustand mit einer Präpariernadel . (= Standardmethode).

Für Vergleichszwecke und bestimmte Organfarbuntersuchungen (Eigenfarbe) auch übliches Aufziehen aus dem Wasserbad bei 1 Minute Wässerungszeit. Verwendung unbeschichteter Deckgläser (ohne Eiweißglycerin) von 5 x 2,4 cm.

- d) Befestigung der Deckgläser mit Tesafilm vor die Lichtöffnungen des Spektralphotometereinsatzes in der beschriebenen Weise.
- e) Extinktionsmessung des Schnittpräparats mit dem geeichten Spektralphotometer im Wellenbereich von 700 nm bis 320 nm (sichtbarer Bereich) und u.U. von 360 nm bis 260 nm (UV-Bereich). Aufzeichnung der Extinktionskurven auf ein Schreibblatt mit scanningtime 10 und einfacher Skalenspreizung.

3. Die aufgezeichneten Extinktionskurven ergaben folgende Ergebnisse :

Bei allen Schnitten - sowohl Leber, wie Herz, wie Nierenrinde - erhielten wir das gleiche qualitative Ergebnis in Form der erwähnten drei Maxima im Sichtbaren und zwei im UV- Bereich, die zusammen dem Hb-Spektrum entsprechen. Damit steht fest, daß die Organfarbe im Wesentlichen vom Blutspektrum bestimmt wird.

Das quantitative Ergebnis in Form unterschiedlich hoher Extinktionsmaxima ergab jedoch Unterschiede in der Farbintensität (zwischen gleich dicken Schnitten a) von Leber, Nierenrinde und Herzmuskulatur, b) von verschiedenen Gewebeproben gleicher Organe : z.B. von Leberpräparaten verschiedener Sektionsfälle).

Da die Farbmessung also auf eine Hb-Messung hinausläuft, entsprechen diese Unterschiede in der Farbintensität dem unterschiedlichen Hb- Gehalt der Präparate. Die Höhe der E-Maxima ist der Hb-Konzentration proportional. Daraus ergibt sich die Möglichkeit einer Hb- Bestimmung und entsprechender Vergleichsanalysen.

4. Neben Lage und Höhe der Extinktionsmaxima enthält die Kurve an weiteren Informationen die Lage der Kurve in einem bestimmten Extinktionsbereich und die Kurvensteigung.

Die Extinktionskurven besitzen eine Grundsteigung zu den kürzeren Wellenlängen hin, als Zeichen erhöhter Absorption und Streuung am Präparat bei kürzeren Wellenlängen.

Auf diese gleichmäßig ansteigende Grundkurve sind die Extinktionsmaxima " aufgesetzt ". Diese Kurvensteigung als Ausdruck zunehmender Absorption und Streuung hat für unsere Zwecke keinen Informationswert.

Ebenso ist die Lage der Kurve in bestimmten Extinktionsbereichen von der Gesamtaborption und der Streuung am Präparat abhängig und kann in der Arbeit nicht ausgewertet werden, da der wechselnde Anteil der Streuung nicht erfaßbar ist.

Nachdem in den Vorversuchen die Möglichkeit einer Organfarbestimmung an Gefrierschnitten mit der Extinktionsmethode gesichert und eine Standardmethode zur Durchführung dieser Messungen gefunden werden konnte, wollten wir im Hauptteil der Arbeit die vorläufigen Ergebnisse der Vorversuche weiterverfolgen :

1. Wir wollten das qualitative Versuchsergebnis aufgreifen, genauer untersuchen und spezielle Tests in Bezug auf die Art der Organfarbe durchführen.
2. Wir wollten die schon genannte Möglichkeit nutzen, das quantitative Versuchsergebnis in Form der Höhe der Extinktionsmaxima auszuwerten und eine Hb- Bestimmung mit Hilfe unserer Standardmethode an einer größeren Versuchsreihe durchführen.

UNTERSUCHUNGEN ÜBER DIE ART DER ORGANFARBE.

1. BLUTSPEKTRUM UND ORGANFARBE.

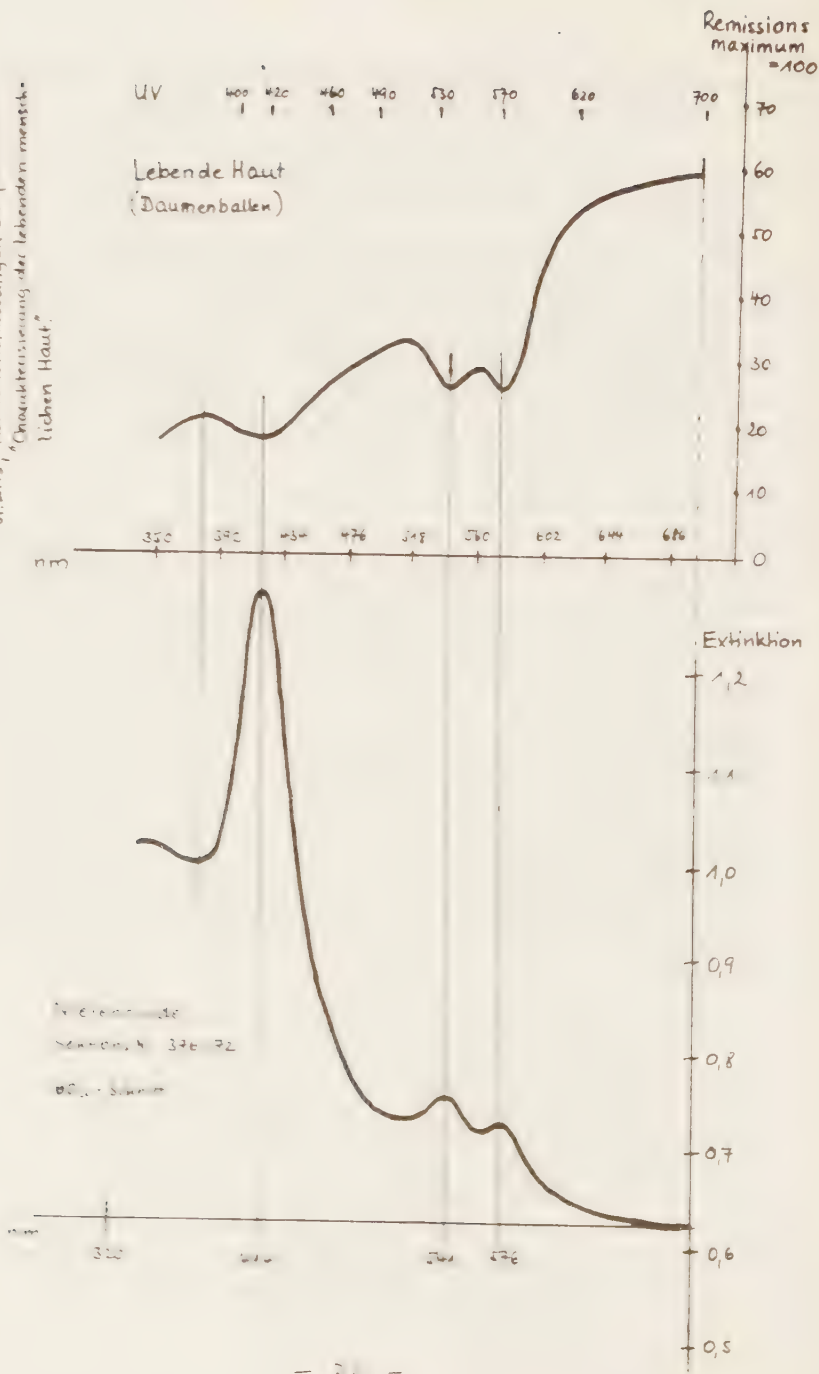
Das qualitative Ergebnis der Vorversuche mit den für alle Schnitte gleichen Extinktionsmaxima bei 414, 541 und 576 nm im sichtbaren Bereich und 275 und 350 nm im UV-Bereich, dem Spektrum des Hämoglobins, bedeutet, daß die Organfarbe vom Blut bestimmt wird, die Farbqualität des Blutes besitzt. Zu dem gleichen Ergebnis kam Lins bei den Hautuntersuchungen mit der Remissionsspektrometrie. Auch er fand im Wesentlichen ein Blutspektrum. So stimmen seine Farbuntersuchungen mit den unseren in der Lage der Maxima und Minima gut überein, wie ein Vergleich der Remissionskurven mit den Extinktionskurven zeigt. Die Kurven liegen spiegelbildlich zueinander, denn in Wellenbereichen maximaler Absorption erscheint in der Remissionskurve ein Minimum (geringe Lichtintensität I_0 des reflektierten Lichts dieser Wellenlänge), in der Extinktionskurve dagegen ein Maximum ($E = \frac{1}{I_0}$). Bei beiden Kurven fehlen andere Maxima als Zeichen anderer Farbkomponenten (oder der Eigenfarbe eines Organs). Zum Vergleich fertigten wir einen Blutaussstrich auf einem Deckglas an und vermaßen ihn. Die Extinktionskurve stimmt in der Lage der Maxima und Minima völlig mit den Kurven der Organschnitte überein. Dafür gibt es zwei Erklärungsmöglichkeiten:

1. Es existieren keine anderen Farbkomponenten als die des Blutes, die Farbqualität von Organ und Blut ist identisch. Die unterschiedlichen Farbeindrücke der Organe auf den Betrachter müßten dann durch andere Ursachen erklärt werden, z.B.

- a) durch Pigmente, die alle Wellenlängen gleichstark absorbieren, also farblos sind aber durch hohe Gesamtabsorption einen dunkleren Farbton der gleichen Farbvalenz erzeugen, z.B. Melanin.

Entnommen aus: Beiträge zur Geriatrie
Medizin 1969

G. Lins, Remissionsmessungen zur farblichen
Charakterisierung der lebenden mensch-
lichen Haut.



(Lins konnte beim Vergleich der Remissionsmessungen an der Haut von Weißhäutigen und Negern zeigen, daß die Remissionskurve der viel stärker melaninhaltigen Negerhaut die gleiche Form aufweist wie die weißhäutiger Menschen - gleiche Farbqualität - aber etwas tiefer liegt, als Zeichen einer erhöhten Gesamtabsorption,)

- b) durch die Oberflächenstruktur der Organe, Dicke oder Struktur der die Organe überziehenden Bindegewebskapseln,
- c) durch die Gewebestruktur der Organe selbst
- d) oder durch die Mikroverteilung des Blutes im Gewebe.

Es wären jedenfalls Ursachen, die mit der Farbqualität nichts zu tun haben. Ausgeblutete Organe besäßen dann keine Eigenfarbe, sie wären farblos. Die grau-weißliche " Eigenfarbe " der Nierenrinde bei gedrosselter Durchblutung (Schockniere) und die ebenfalls weißliche Farbe der Muskulatur bei Blutleere sprechen dafür. Dagegen befriedigt diese Erklärung bei der bräunlicheren Leberfarbe nicht.

2. Es existieren zwar andere Farbkomponenten, die neben dem Blut die Organfarbe bestimmen, die wir aber mit unserer Methode nicht erfassen. Das ist nur möglich, wenn

- a) diese Farbkomponenten so schwach sind, daß ihre Extinktionsmaxima unterhalb der Meßgenauigkeit des Spektralphotometers liegen. (Es wäre denkbar, daß solche schwachen Farbkomponenten - im Gewebeschnitt nicht mehr erfaßbar - durch das große Volumen der Organe in der Wirkung kumulieren und für die Organfarbe eine Rolle spielen .)
- b) Die Extinktionsmaxima dieser Farbstoffe vom Blutspektrum überlagert werden.

Sowohl die schwachen wie die überdeckten Farbkomponenten müßten durch extrem dicke Schnitte und durch Herauslösen des Hämoglobins aus dem Schnitt erfaßbar sein. Wir fertigten deshalb Schnitte vor allem von Leber und Nierenrinde mit Schnittdicken von 80μ , bzw. 60μ ansteigend bis zu 300μ an und dehnten die Wässerungszeiten von einer Minute bis auf 24 Stunden aus.

Die dickeren Schnitte erbrachten keine neuen Ergebnisse und auch das lange Wässern deckte keine neuen Farbkomponenten auf. Bei entsprechend der Schnittdicke und Wässerungszeit stark variierenden E-Höhen blieben die Maxima qualitativ unverändert. Bei sehr langer Wässerungszeit (24 h) ergab sich in jedem Fall die schon anfangs gemessene Leerkurve, die ohne Maxima gleichmäßig zu kleinem λ hin ansteigt - als Zeichen dafür, daß alles Blut aus dem Schnitt gelöst wurde.

Damit ist es sehr wahrscheinlich, daß keine weiteren Farbstoffe als die des Blutes die Organfarbe bestimmen, es sei denn, sie lösen sich mit gleicher (oder größerer) Geschwindigkeit aus dem Gewebe wie das Hämoglobin. In diesem Fall wäre ein solcher schwacher Farbstoff auch bei den letzten Tests nicht meßbar, weil das ungünstige Konzentrationsverhältnis Farbstoff/Hb dann erhalten bliebe.

Unsere Suche nach anderen Extinktionsmaxima als Zeichen anderer Farbkomponenten als der des Blutes verlief also ergebnislos.

Trotzdem sind innerhalb der gemessenen Extinktionskurven mit für alle Schnitte gleicher Lage der Maxima qualitative Unterschiede möglich, die die unterschiedliche Organfarbe erklären.

2. ORGANFARBBESTIMMUNG DURCH UNTERSCHIEDLICHE SPEKTRALE VERTEILUNG DES LICHTS.

Schon der Vergleich der Linsschen Kurven mit den unseren zeigt bei zwar gleichen Absorptionsstellen den unter-

schiedlichen spektralen Verlauf der Absorption.(siehe Kurvenform!).Gerade dieser spektrale Verlauf,die Verteilung des gesamten reflektierten bzw.transmittierten Lichts auf die einzelnen Spektrallinien bestimmt aber die Farbqualität, Farbart eines Objekts.Die Farbart wird also nicht nur durch die Lage der Maxima bei bestimmten Wellenlängen, sondern auch durch das Verhältnis der Extinktionshöhen der einzelnen Wellenlängen zueinander bestimmt, also durch die absorbierten Spektrallinien und ihr "Mischungsverhältnis" zueinander.Eine Änderung der Farbqualität ist daher trotz gleicher Lage der Maxima durch ein verändertes Verhältnis der Extinktionshöhen einer Kurve möglich.(Dagegen haben wir unter der quantitativen Farbänderung(=Änderung nur der Farbintensität) in Form der Extinktionshöhe der Maxima immer die gleichmäßige,proportionale Extinktionsänderung aller Maxima verstanden,wobei das Verhältnis der Maxima untereinander konstant blieb-keine Änderung der Farbqualität!).

So bedeutet z.B. ein unterschiedliches Verhältnis von Maximum I zu Maximum II (oder III),wie es beim Vergleich der Linsschen Kurven mit den unseren auffällt, unterschiedlich hohe Absorptionsraten bei den entsprechenden Wellenlängen,also ein verändertes "Mischungsverhältnis " der Spektralfarben und damit trotz gleicher Absorptionsstellen verschiedene Farbvalenz.

So könnte sich eine andersartige Organfarbe (z.B. der Leber) in unseren Extinktionskurven in Form eines anderen Extinktionsverhältnisses der Maxima zeigen.

Gerade beim Verhältnis $V = \frac{\text{Max.I}}{\text{Max.II}}$ sind Unterschiede von einem Präparat zum anderen möglich :

Unsere Extinktionskurven geben das Blutspektrum wieder, das mit dem Hb-Spektrum nicht identisch sein muß.Zwar weisen beide Spektren Maxima bei 414, 541 und 576 nm auf, aber reine Spektrallinien des Hämoglobins, durch Hb-Absorption allein hervorgerufen, sind nur die Maxima II und III bei 541 und 576 nm.Das Maximum I bei 414 nm (=Soret-Bande) ist ein Summenmaximum, das durch Absorption von Hb und anderen, den Porphyrinring enthaltenden Substanzen entsteht. Solche Substanzen sind

vor allem die Abbauprodukte des Hb, die ebenfalls im Blut enthalten sind. Sie können durch unterschiedliche Konzentration trotz gleichen Hb-Gehalts zu unterschiedlich hohem Maximum I bei gleichen Maxima II und III, also zu verschiedenem V führen.

Die Richtigkeit der Unterscheidung zwischen Blut- und Hb-Spektrum zeigen sehr blasse Schnitte, bei denen die Maxima II und III nur noch angedeutet sind oder ganz fehlen - als Zeichen verschwindend geringer Hb-Konzentration-, das Maximum I dagegen noch deutlich meßbar ist - als Zeichen gemeinsamer Absorption von Hb und anderen Substanzen.

(Das Blutspektrum enthält natürlich das Hb-Spektrum und unterscheidet sich von ihm nur in der Höhe des Maximum I). Wir wollten in diesem Teil der Arbeit die vermuteten Zusammenhänge zwischen Organfarbe und spektraler Verteilung des transmittierten Lichts auf die einzelnen Wellenlängen untersuchen und dazu das Verhältnis Maximum I zu Maximum II benutzen, also - wenn möglich - verschiedene Organfarben durch unterschiedliches Extinktionsverhältnis V von Maximum I zu Maximum II aufzeigen.

Dazu benutzten wir Organschnitte und Blutvergleichskurven, die wir zur Hb- Bestimmung anfertigten und auf die wir bei der Hb-Bestimmung näher eingehen werden. Es handelt sich um Extinktionskurven direkt gerollter Gefrierschnitte konstanter Dicke und um mindestens 3 Schnitte, pro Organpräparat.

Wir vermaßen mit der bei der Hb- Bestimmung beschriebenen Methode die Extinktionshöhen der Maxima I und II, bildeten den Mittelwert der E-Höhe für Max. I und Max. II aus den Kurven der drei Schnitte und bestimmten V, das Verhältnis der Mittelwerte von Maximum I und II.

3. ERGEBNISSE DER UNTERSUCHUNG DER EXTINKTIONSVERHÄLTNISSE.

Der Vergleich der Verhältnisse (V_{Hb} = obiges Verhältnis für das Hb-Spektrum, V_{Bl} für Blutlösungen und Blutausrich, V_N für die Nierenschnitte, V_L für die Leberschnitte, V_H für die Herzmuskelschnitte)

erbrachte folgendes Ergebnis :

1. Der Vergleich der V_N für verschiedene Nierenpräparate untereinander ergab :

Das Verhältnis Maximum I/Maximum II ist für verschiedene Nierenpräparate nicht gleich. Es läßt sich eine gewisse Gesetzmäßigkeit erkennen: V_N nimmt mit zunehmender Höhe des Maximums II, also mit zunehmendem Hb-Gehalt ab.

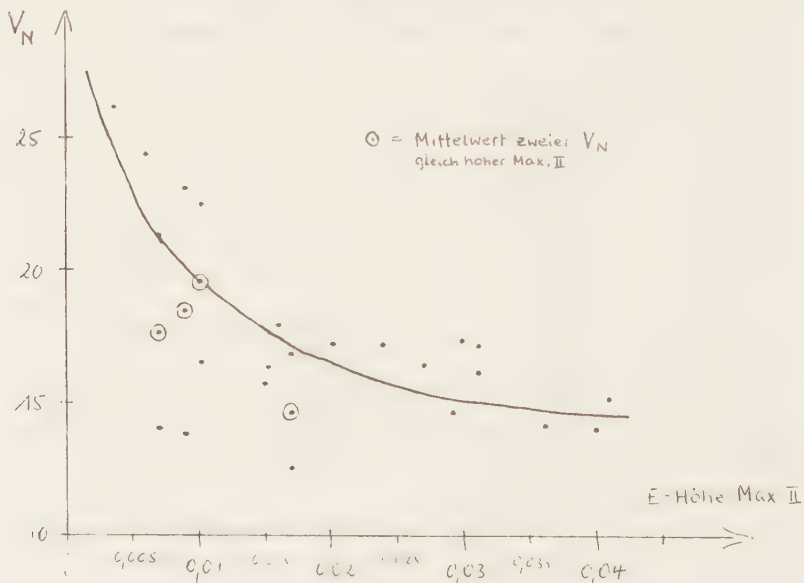
Ein großes V bedeutet letzten Endes viel andere Substanzen, die ebenfalls bei 414 nm absorbieren und relativ dazu wenig Hb, kleines V umgekehrt. Das heißt, daß mit zunehmendem Hb- Gehalt die Konzentration der anderen Substanzen nicht in gleicher Weise zunimmt (Maximum I nimmt schwächer zu als Maximum II), möglicherweise sogar konstant ist. Man kann annehmen, daß diese Substanzen zum Teil (oder nur - z.B. Eigenfarbe !) im Gewebe des Schnitts (Zellen !) enthalten sind und zwar in vom Blutgehalt unabhängiger, relativ konstanter Konzentration und zum anderen Teil im Blut vorhanden sind, also mit der Durchblutung schwanken.

Nur durch diesen relativ konstanten Gewebefaktor bei der Absorption im Bereich von 414 nm erklärt sich der geringere prozentuale Zuwachs beim Maximum I als beim Maximum II und damit die Abnahme von V_N mit steigendem Hb-Gehalt.

Sektion Nr.72	Ø E-Höhe Max.I	Ø E-Höhe II	V_N
514	0.097	0.0037	26,2
535	0.146	0.0060	24,4
534	0.149	0.0070	21,3
509	0.098	0.0070	14,0
544	0.208	0.0090	23,1
506	0.124	0.0090	13,8
543	0.232	0.0103	22,5
492	0.170	0.0103	16,5
548	0.249	0.0153	16,3
456	0.235	0.015	15,7
542	0.286	0.016	17,9

532	0,286	0,017	16,8
512	0,216	0,0172	12,5
549	0,349	0,0203	17,2
412	0,414	0,0240	17,2
455	0,448	0,0273	16,4
371	0,428	0,0293	14,6
413	0,519	0,0300	17,3
414	0,535	0,0313	17,1
498	0,513	0,0363	14,15
513	0,558	0,0400	14,0
526	0,623	0,0410	15,2

Aus den Tabellen geht hervor, daß V_N ungefähr mit zunehmendem Hb-Gehalt abnimmt, es ist aber auch ersichtlich, daß Präparate mit gleichem Hb-Gehalt und gleichem Maximum II ein sehr verschieden hohes Maximum I und damit verschiedenes V_N haben können. Z.B. 2 Fälle (544 und 506) mit Maximum II = 0,009 und $V_N = 23,1$ und $13,8$ und Nr. 543 und 492 mit Maximum II = 0,0103, $V_N = 22,5$ und $16,5$. Das bedeutet, daß das gleiche Organ(Niere) verschiedener Personen mit gleichem Hb-Gehalt einmal sehr viel Substanzen enthält, die ebenfalls bei 414 nm absorbieren und einmal sehr wenig.



Diese Unterschiede von V_N stellen Farbunterschiede qualitativer Art von einem Organ zum anderen dar. Der Vergleich der V_N verschiedener Nierenpräparate ergab also:

1. Unterschiede in Abhängigkeit vom Hb-Gehalt, von der Durchblutung und
2. vereinzelt Unterschiede zwischen Organen mit gleichem Hb-Gehalt auf Grund unterschiedlicher Organzusammensetzung.

2. Vergleich der Verhältnisse $\frac{\text{Max. I}}{\text{Max. II}}$ von Leber und Niere.

Nachdem wir nun wissen, daß das V vom Hb-Gehalt abhängt, müssen wir beim Vergleich der Organe untereinander von Schnitten etwa gleichen Hb-Gehalts ausgehen.

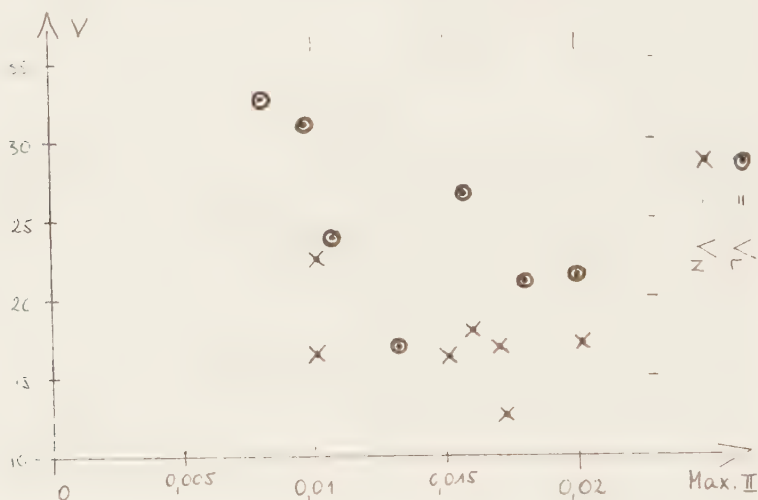
Wir untersuchten Nieren- und Leberschnitte aus jeweils der gleichen Leiche und zogen zum Vergleich V_N mit V_L nur die Fälle heran, bei denen Leber- und Nieren-Hb-Gehalt etwa in der gleichen Größenordnung liegen. Da das Maximum I der Leberschnitte durch die zwangsläufig hohe Schnittdicke (80 μ) nur selten im Meßbereich lag, konnten nur die wenigen Fälle mit meßbaren Leber-max. I verwendet werden.

Sektion Nr. 72/	Max.II _L	Max.II _N	V_L	V_N
492	0,0083	0,0103	32,6	16,5
512	0,0132	0,0172	16,8	12,5
532	0,0157	0,0170	26,6	16,8
* 542	0,0200	0,0160	21,5	17,9
543	0,0097	0,0103	31,0	22,5
548	0,0107	0,0153	23,8	16,3
549	0,0180	0,0203	21,1	17,2

Die Meßergebnisse zeigen, daß V_L in jedem Fall größer als das zugehörige V_N ist; das bestätigt unsere Vermutung, daß sich die Farbunterschiede zwischen Leber und Niere in einem verschiedenen Größenverhältnis der Absorption gleicher Spektrallinien darstellen. Zugleich wird gezeigt, daß diese Unterschiede mit unserer Methode erfaßbar sind.

Das höhere V_L bedeutet vermehrt Substanzen in der Leber, die neben dem Hb bei 414 nm absorbieren- nicht unwahrscheinlich, wenn man daran denkt, daß es sich im Wesentlichen um Hb-Abbauprodukte handelt !

Das durchschnittliche $\bar{V}_L$ für die oben genannten Präparate beträgt 24,8 , $\bar{V}_N$ 17,1. Der Unterschied ist also ungefähr 31%. Um diesen Betrag ist das Maximum I bei Leberpräparaten im Durchschnitt höher als das bei Nierenpräparaten.



Allerdings sind trotz vergleichbarem Hb-Gehalt die Schnittdicken verschieden : Leber 80μ und Niere 60μ .

Es zeigt sich aber, daß das am grundsätzlichen Ergebnis nichts ändert. Bei Sektion Nr. 542 (*) wurden für Leber und Nierenschnitte die gleiche Schnittdicke von 80μ verwendet; dabei ergab sich : $V_L = 21,5$, $V_N = 17,9$ und ein Unterschied von 16,7%. Ein deutlicher Unterschied also auch bei gleichen Schnittdicken - und ein Unterschied, der sicher etwas zu klein ausfällt, da das Leberpräparat um 20% blutreicher ist und deshalb nach dem Gesetz des fallenden V bei steigendem Hb-Gehalt im Vergleich zur Nierenrinde ein zu kleines V_L aufweist.

3. Wir vermaßen auch bei den angefertigten Blutvergleichskurven die Maxima I und II und bildeten V_{Bl} . Aus den Werten für V_{Bl} ergab sich ein Mittelwert $\bar{V}_{Bl}$ von 11,8. Das V_{Bl} für den Blutausschlag, den wir zur Kontrolle vermaßen hatten, ergab 11,3.

Die Werte stimmen also recht gut überein. Die geringen Unterschiede können durch unterschiedliche Zusammensetzung der beiden Blutproben (Blut für die Vergleichskurven : Sektion Nr. 627/72, Blut für Blutausschlag : Sektion Nr. 117/72) zustande kommen.

4. Die selben Untersuchungen wie bei Leber und Nierenrinde stellten wir auch an der Herzmuskulatur an, wobei uns - mit einer Ausnahme - aber nur Herzmuskelpräparate zur Verfügung standen, die aus anderen Leichen als die Leber und Nierenrindenpräparate stammten, sodaß der Vergleich der einzelnen Werte für V nicht wie im Abschnitt 2 möglich war.

Sektion Nr. 72/	ϕ -E Max. I	ϕ -E Max. II	V_H
309	0,537	0,034	15,8
312	0,423	0,030	14,1
316	0,461	0,022	21,0
496 Inf.	0,464	0,023	20,2
496 norm.	0,604	0,040	15,1

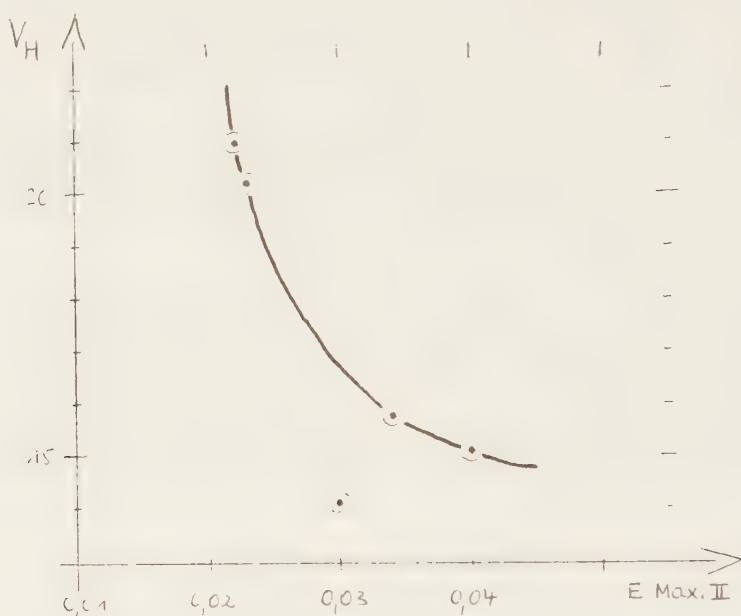
Nur bei der Sektion Nr. 312/72 waren auch Leberschnitte angefertigt worden. Der Vergleich Leber-Herz ergab: $V_H = 14,1$ $V_L = 17,6$ (Leber Max. I = 0,475, Max. II = 0,027). Da auch der Hb-Gehalt von Herz und Leber in diesem Fall vergleichbar ist (siehe Maxima II !), geht daraus hervor, daß die Leber auch hier mit eindeutig höherem V mehr bei 414 nm absorbierende Substanzen enthält als die Herzmuskulatur.

Das wird durch die Mittelwerte bestätigt :

$$\bar{V}_H = 17,2 \quad \bar{V}_L = 24,6$$

Dieser Mittelwert für V_H stimmt überraschend mit dem der

Nierenschnitte überein : $\bar{V}_H = 17,2$, $\bar{V}_N = 17,1$.



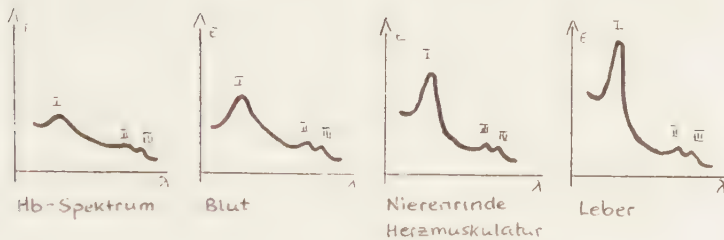
Das Diagramm zeigt, daß die gleiche Gesetzmäßigkeit, wie wir sie für die Nierenrindenschnitte gefunden haben, auch für die Herzmuskulatur gilt : V_H nimmt mit zunehmendem Hb- Gehalt ab. Allerdings ist die Zahl der Schnitte zu klein, um beweisend zu sein.

Ein interessantes Ergebnis liefern die beiden Gewebeproben der Herzmuskulatur von Sektion Nr. 496. Es handelt sich dabei um normale Herzmuskulatur sowie Herzmuskulatur mit einer 0,5 × 0,5 cm großen Infarktnarbe, die als blaßrosa Fleck von der dunkleren Normalfarbe abwich. Obwohl es sich nur um eine kleine Fläche im Vergleich zur durchleuchteten Gesamtfläche von 2 x 1 cm handelt, kommt sowohl der geringere Hb-Genalt (0,36 g% statt 0,59 g% beim normalen Gewebe) wie auch die Farbabweichung (V_H inf. = 20,2 , V_H normal = 15,1) sehr deutlich zum Ausdruck.

Die Zunahme der Substanzen, die außer dem Hämoglobin bei 414 nm absorbieren und im reinen Hb-Spektrum fehlen, stellt sich von einem Organ zum anderen - in V ausgedrückt - folgendermaßen vor :

$$\overline{V}_{Bl} < \overline{V}_N = \overline{V}_H < \overline{V}_L$$

11,3 17,1 17,2 24,8



Der Anteil anderer Substanzen nimmt also vom Blut über die Nierenrinde und die Herzmuskulatur zur Leber hin zu. Im selben Maß steigt die Extinktionshöhe des Maximumx I im Vergleich zum Maximum II als Ausdruck einer qualitativen Farbänderung, einer Änderung der Farbvalenz.

Deutliche Unterschiede in der Farbvalenz ergeben sich also zwischen Blut, Niere (bzw. Herz) und Leber, während Niere und Herzmuskulatur in der Farbqualität übereinzustimmen scheinen.

(Allerdings ist nicht gesichert; ob V_N und V_H in jedem Fall größer als V_{Bl} sein müssen, denn besonders V_N aber auch V_H sind aus Schnitten mit relativ kleinem Hb-Gehalt bestimmt worden, die, wie wir gesehen haben, ein besonders hohes V aufweisen. Die hyperbelähnliche Punkteverteilung im Diagramm der Nierenschnitte deutet zwar darauf hin, daß V_N sich mit steigendem Max.II einem Grenzwert nähert, ohne diesen zu

unterschreiten, aber trotzdem könnten bei hohem Hb-Gehalt V_N und V_{Bl} übereinstimmen, denn nach dem Kurvenverlauf dürfte diese unterste Grenze für V_N zwischen 12 und 14 liegen. Ähnlich sind die Verhältnisse wahrscheinlich beim Herzen, während die Leberwerte sich deutlich nach oben absetzen.
 - Siehe Punkteverteilung im Vergleichsdiagramm Leber- Niere ~ .)

Zusammenfassend kann man sagen,

1. daß wir die vermuteten Zusammenhänge zwischen Organfarbe und der spektralen Verteilung der Absorption im Verhältnis der Maxima zueinander zeigen konnten;
2. daß eine exakte Bestimmung der Organfarbvalenz mit der Gefrierschnittmethode möglich erscheint :
 - a) aus der Lage der Extinktionsmaxima bei bestimmten Wellenlängen (bei unseren Tests konstant - nach der Lage der Maxima allein ergibt sich immer ein Blutspektrum),
 - b) aus den Extinktionsverhältnissen der Maxima zueinander (bei unseren Versuchen verschieden - unterschiedliche Zusammensetzung der gleichen Farbsubstanzen führt zu verschiedener Farbvalenz);
3. daß aber das Verhältnis der Extinktionsgrößen bei bestimmten Wellenlängen noch an einer größeren Versuchsreihe, mit mehr Organen pro Leiche und konstantem Hb-Gehalt genauer untersucht werden müßte. Insbesondere sollten auch die Verhältnisse anderer Absorptionsstellen (als Maximum I und II) zueinander geprüft werden, denn Farbunterschiede können sich theoretisch natürlich an jeder Stelle des sichtbaren Spektrums in Form unterschiedlicher Absorptionsverhältnisse zeigen (statt der Untersuchung des Verhältnisses Maximum I zu Maximum II z.B. das von Minimum C zu Maximum III !).

Am Ende dieser Untersuchungen soll noch auf einen Faktor der Organfarbe hingewiesen werden, der mit unserer Methode nicht erfaßbar ist.

Wir haben gesehen, daß das Hämoglobin die wichtigste Komponente der Organfarbe darstellt ; aus dem Oxydationszustand des Hb, je nachdem, ob es sich um Hb oder O_2 -Hb handelt, können sich feine Farbunterschiede ergeben, da die Absorptionsstellen nicht identisch sind.

In den Organen setzt sich das Hämoglobin immer in einem gewissen Verhältnis von O_2 -Hb zu Hb aus beiden zusammen. Dieses Verhältnis ist von Organ zu Organ verschieden. Es ist in der Leber zu Gunsten des Hb verschoben, weil sie viel CO_2 -reiches und sauerstoffarmes Blut erhält (Pfortaderkreislauf), während es bei der Niere, die über ihren funktionellen Kreislauf nur O_2 -gesättigtes Blut erhält, auf Seiten des O_2 -Hb liegt.

Solche feinen Farbunterschiede durch unterschiedliche Organkonzentrationen von Hb bzw. O_2 -Hb lassen sich mit dieser Methode nicht erfassen, weil in den Gewebeschnitten praktisch alles Hb in Form des O_2 -Hb vorliegt, unabhängig von den Gegebenheiten im Organ. Durch den Kontakt der Schnitte mit der Luft ist ein guter Gasaustausch bis zu den Dampfdruckverhältnissen der Luft möglich.

1. METHODE UND ZIELSETZUNG

Nachdem die Extinktionshöhe der Maxima **II** und **III** nur durch Absorption des Hb zustande kommt und dem Hb-Gehalt proportional ist, wollten wir diese Maxima zur Bestimmung der Hb-Konzentration heranziehen und damit eine neue Organ-Hb-Bestimmungsmethode an Gefrierschnitten versuchen.

Dazu wollten wir etwa 50 Fälle untersuchen, d.h. von 50 Leichen Nierenrinden- und Leberpräparate entnehmen, davon mindestens je drei Gefrierschnitte konstanter Schnittdicke (Leber 80μ , Nierenrinde 60μ) anfertigen und auf die beschriebene Weise direkt ohne Wässern aufziehen und vermessen. Aus den aufgezeichneten Extinktionskurven sollte die Höhe der Maxima **II** und **III** bestimmt und der Mittelwert für das Maximum **II** und der für das Maximum **III** aus den drei Kurven eines jeden Präparats gebildet werden.

Außerdem wollten wir eine Blutverdünnungsreihe mit wechselndem aber bekanntem Hb-Gehalt anfertigen, - drei Lösungen für jede Hb-Konzentration- und mit Küvetten ebenfalls im Spektralphotometer vermessen. Die aus den Extinktionskurven ermittelten Durchschnittswerte für die Extinktionshöhe der Maxima **II** und **III** entsprachen genau bekannten Hb-Konzentrationen. Diese Wertepaare E-Höhe und Hb-Konzentration, in ein Diagramm eingetragen, sollten es uns ermöglichen, zur Extinktionshöhe unserer Schnitte die entsprechende, gesuchte Hb-Konzentration zu bestimmen.

Aus den Mittelwerten für Maximum **II** und Maximum **III** erhält man zwei Werte der Hb-Konzentration der Schnitte, die bis auf Meßfehler etc. übereinstimmen müssen. Der Mittelwert dieser beiden Konzentrationswerte ergibt die Hb- Konzentration eines Organs.

Der Vergleich der Hb-Konzentrationen unserer Nieren- und entsprechenden Leberpräparate untereinander und mit dem Sektionsprotokoll sollte über folgende Punkte Aufschluß geben:

1. Richtigkeit von subjektiven Farbangaben etc. im Sektionsprotokoll,
2. Zusammenhänge zwischen Hb-Gehalt (Durchblutung) und Todesursache, bzw. pathologischen Organveränderungen,
3. Genauigkeit und Differenzierungsvermögen dieser Organ-Hb-Bestimmungsmethode.

Wir wollten für diese Versuche nur Leber und Nierenrinde verwenden, da sich schon in den Vorversuchen gezeigt hatte, daß der Hb-Gehalt dieser Organe stark schwankt, während er bei der Herzmuskulatur nur geringen Änderungen unterworfen ist (Maximum II bei Herz zwischen 0,02 und 0,04) und deshalb Untersuchungen an der Herzmuskulatur weniger ergiebig erschienen.

Wir führten die Versuche an insgesamt 55 Leichen, also je 55 Nierenrinden- und Leberpräparaten durch.

2. DIE AUSWERTUNG DER HÄMOGLOBIN-BESTIMMUNG

A. Die Blutvergleichskurven

Bei der Sektion Nr. 627/72 entnahmen wir Leichenblut und bestimmten den Hb-Gehalt mit dem Eppendorf-Photometer nach der Cyannämiglobinmethode, Arbeitsvorschrift AV 830, Photometrische Methoden, Medizin, Eppendorf. Aus vier Hb- Bestimmungen bildeten wir den Mittelwert:

Lösung	1	2	3	4
Extinktion	0,366	0,365	0,375	0,371

Mittelwert der Extinktion: 0,369

Daraus ergab sich nach der Formel $E \cdot 100,7 = \text{g Hb}/100\text{ml Blut}$ eine Hb-Konzentration von 13,55 g/100 ml Blut.

Dann pipettierten wir steigende Mengen dieses Blutes von 0,00125 bis 0,03 ml in jeweils 10ml aqua dest. ein und erhielten so eine Blutverdünnungsreihe mit bekannten Hb-Konzentrationen.

Lösung	ml Blut in 10 ml H_2O	g Hb in 100 ml H_2O
1	0,00125	0,00169
2	0,0025	0,00337
3	0,005	0,00675
4	0,010	0,0135
5	0,015	0,0202
6	0,020	0,0270
7	0,025	0,0337
8	0,030	0,0405

Von jeder der acht Lösungen stellten wir drei Proben gleichen Hb-Gehalts her und vermaßen sie, in Küvetten abgefüllt, im Spektralphotometer. (Wir hatten ursprünglich verschiedene Lösungen zur Orientierung angefertigt, um herauszufinden, mit welchen Hb-Konzentrationen wir etwa im Bereich unserer Gefrierschnitte lagen - vergleichbare Extinktionshöhen bei Lösungen und Schnitten - und dann erst diese endgültige Blutverdünnungsreihe zusammengestellt).

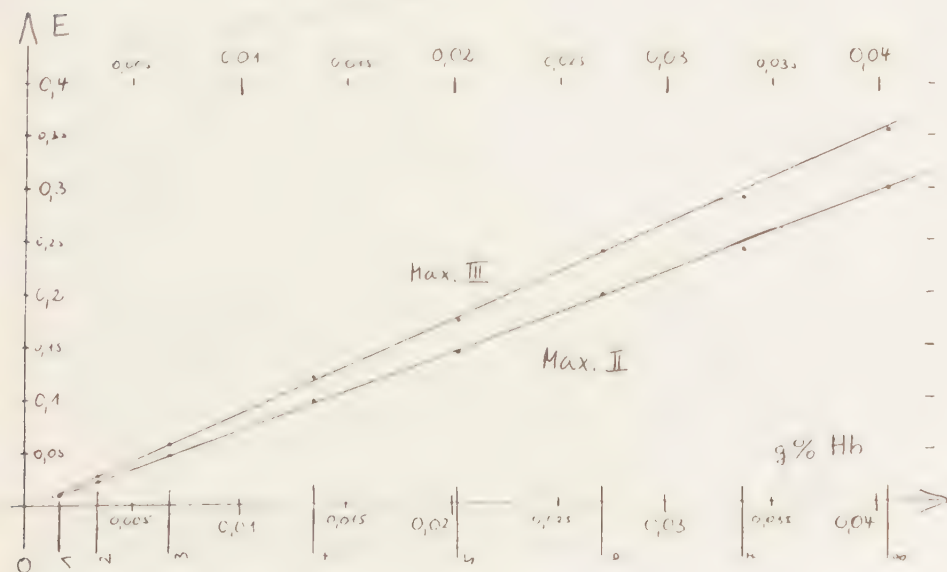
Aus den erhaltenen Extinktionskurven für die Lösungen mit bekanntem Hb-Gehalt konnten wir für jede Hb-Konzentration den Mittelwert des Maximums II und des Maximums III aus den drei gleichen Proben bilden.

Die Extinktionswerte wurden zu den entsprechenden Hb-Werten in ein Diagramm eingetragen. So erhielten wir eine Gerade für Maximum II und eine für Maximum III, aus denen zu jeder Extinktionshöhe unserer Gefrierschnittkurven der gesuchte Hb-Gehalt abgelesen werden konnte.

Auswertung der Blutvergleichskurven :

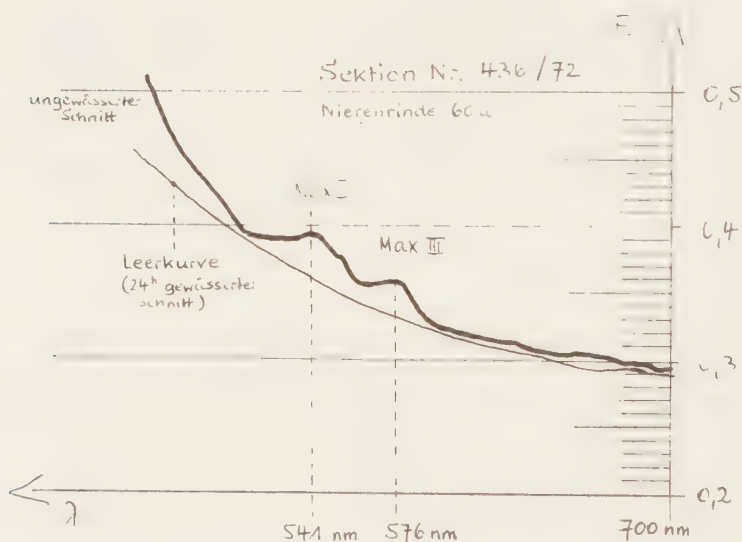
Lösung	1	2	3	4	5	6	7	8
g% Hb	0,00169	0,00675	0,02025	0,03375				
	0,00337	0,01350	0,02700	0,04050				
Max. II	0,007	0,024	0,050	0,105	0,151	0,193	0,243	0,310
	0,008	0,021	0,045	0,100	0,141	0,206	0,234	0,303
	0,007	0,022	0,046	0,092	0,140	0,194	0,246	0,290
Max. III	0,007	0,030	0,060	0,129	0,181	0,233	0,290	0,366
	0,008	0,026	0,055	0,121	0,171	0,248	0,287	0,355
	0,007	0,026	0,056	0,113	0,170	0,235	0,294	0,341
Max. Ø II	0,0073	0,0223	0,047	0,099	0,144	0,198	0,241	0,301
Max. Ø III	0,0073	0,0273	0,057	0,121	0,174	0,239	0,290	0,354

Extinktion / Hb-Diagramm :



B. Die Vermessung der Maxima

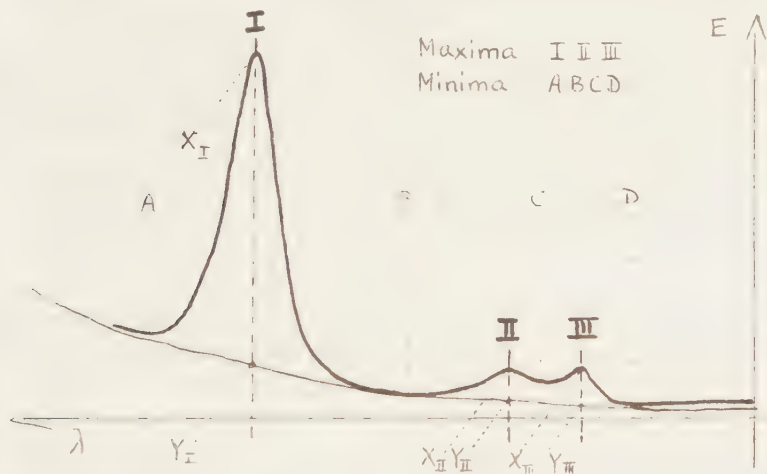
Die Maxima der Extinktionskurven setzen sich auf eine gleichmäßig zu kürzeren Wellenlängen hin ansteigende "Leerkurve" auf. Durch diesen Grundanstieg der Kurve, durch verstärkte Gesamtabsorption und Streuung des Präparats zu kleinerem λ hin hervorgerufen, liegen die Minima der Kurve nicht auf der gleichen Höhe, sondern das Minimum nach einem Maximum (also bei kürzerem λ) liegt immer höher als das vor dem Maximum.



Die Minima unserer Extinktionskurven liegen also auf den entsprechenden Leerkurven. Nur beim Minimum C kehrt die Kurve nicht zur Grundlinie zurück, es wird, zwischen den kurz aufeinander folgenden Maxima II und III liegend, wahrscheinlich infolge der Trägheit der Aufzeichnungsmechanik zu hoch aufgezeichnet.

Bei der Hb- Bestimmung interessiert uns natürlich nur der Teil der Kurve, der allein durch die Absorption des

Hämoglobins zustande kommt und das ist die Höhe der Maxima II und III, von der Leerkurve aus gerechnet. Diese Leerkurve bildet unsere Grundlinie, die Basis der Maxima. Die Höhe der Maxima - proportional zum Hb- Gehalt- ist also eine Parallele zur Ordinate von der Spitze des Maximums bis zum Schnittpunkt mit der Leerkurve, die Strecke XY.



Das Vermessen der Maxima II und III bei der Hb-Bestimmung bestand also in der Bestimmung der Strecke XY, wobei die Schwierigkeit darin lag, den Punkt Y, also den Basispunkt unterhalb des Maximums zu finden, während X in der Maximumspitze gegeben war.

Der Punkt Y konnte nicht, wie in den Abbildungen, durch Unterlegen einer gemessenen Leerkurve bestimmt werden, da die Leerkurven, die wir zum Vergleich durch Vermessen von je drei 24^h gewässerten Schnitten gleicher Leibes- und gleicher Schnittdicke anfertigten, zum Teil erheblich voneinander abwichen. Durch die schon besprochenen Ungenauigkeiten beim Wässern in Form unterschiedlicher Absorption und Streuung differierten auch die drei gleichen Schnitte eines Präparats in Steigung und Verlauf ihrer Extinktionskurven. Im Prinzip ließ sich zwar zeigen, daß die gemessenen Leerkurven etwa den Grundanstieg der Extinktionskurven der unge-

wässerten Präparate, also die gesuchte, gedachte Kurve ohne Maxima wiedergeben (siehe Abbildung : Sektion Nr. 436/72) aber wegen der zu großen Abweichungen und Fehler konnten wir diese Leerkurven nicht zur Standardbestimmung des Punktes Y für alle Versuche heranziehen. Da die Basiskurve unserer Extinktionskurven nur leicht zu den Maxima hin konkav gekrümmt verläuft und die Abweichung von einer Geraden gering ist, ersetzten wir die gesuchte Basiskurve durch eine Verbindungslinie zwischen den Minima B und D . Für die Maxima II und III ergibt sich danach Y aus dem Schnittpunkt dieser Verbindungslinie mit einer Parallelen zur Ordinate durch X.

(Bei der Vermessung des Maximums I für die Organfarbe - stimmung bestimmten wir die Höhe des Maximum I in gleicher Weise durch Ersatz der Basiskurve durch die Verbindungslinie AB).

Dadurch wird die Strecke XY etwas kürzer und die gemessenen Extinktionswerte der Maxima etwas zu klein. Dieser Fehler ist aber 1.) nur gering und betrifft 2.) auch die Blutvergleichskurven, die in gleicher Weise vermessen wurden, so daß sich der Fehler praktisch aufhebt . (Ein etwas verringertes Maximum bei den Schnitten trifft beim Vergleich mit den Blutkurven auf ein genauso verringertes Maximum und ergibt deshalb ebenso den genauen Hb-Gehalt des Gewebes wie das volle Maximum bei entsprechend anderer Vermessungsmethode).

Wir vermaßen also die Maxima II und III der Präparate und der Blutkurve mit dieser Methode und konnten die Höhe der Maxima (XY) direkt in Extinktionswerten ablesen, da auf das Schreibblatt die geeichte E-Skala aufgedruckt ist.

C. Berechnung der Hb- Werte

Aus je drei direkt abgelesenen Extinktionswerten für das Maximum II und III - gegeben durch die drei Extinktionskurven der drei verschiedenen Schnitte eines Präparats - bildeten wir das arithmetische Mittel für Maximum II und III.

Diese beiden E-Mittelwerte setzten wir in das Diagramm der Blutvergleichskurven ein und erhielten damit die zwei entsprechenden Hb-Werte für Maximum II und III. Nach Mittelung dieser beiden Werte ergab sich der Hb-Wert eines Organs, auf die Schnittdicke bezogen. Durch Umrechnung von der Schnittdicke auf den Küvettendurchmesser (= 10 mm), der den Blutvergleichsmessungen zugrunde lag, erhielten wir den endgültigen Hb-Gehalt in g %.

Da die Leberschnitte mit 80μ , die Nierenschnitte mit 60μ Dicke angefertigt worden waren, ergab sich für die Leber der Umrechnungsfaktor

$$\frac{10 \text{ mm}}{80\mu} = \frac{10 \text{ mm}}{0,08 \text{ mm}} = 125,0, \text{ für Nierenrinde } \frac{10 \text{ mm}}{0,06 \text{ mm}} = 166,67$$

Berechnungsbeispiel Sektion Nr. 526/72, Leber :

	Max. II	Max. III
E- Werte	0,045 0,040 0,041	0,059 0,052 0,050
$\emptyset$ - E- Wert	0,042	0,0537
Hb- Werte aus dem Diagramm	0,0061	0,0063
$\emptyset$ -Hb- Wert auf Schnittdicke bezogen	0,0062	

Multiplikation von 0,0062 mit 125,0 ergibt den Hb.-Gehalt in g % :

$$\underline{0,78 \text{ g \%}}$$

Tabelle der Organpräparate

Sektions Nr.72/	Leber-Hb	Nieren-Hb	L + N	$\frac{L}{N}$
	g %	g %		
341	0,388	0,067	0,455	5,81
347	1,738	1,000	2,738	1,74
348	0,375	1,050	1,425	0,36
366	0,663	0,267	0,930	2,48
371	1,888	0,717	2,605	2,64
376	0,513	1,250	1,763	0,41
384	1,863	2,050	3,913	0,91
392	1,325	0,433	1,758	3,06
399	1,500	1,800	3,300	0,83
403	0,775	0,283	1,058	2,74
405	0,288	0,867	1,155	0,84
412	0,375	0,600	0,975	0,63
413	1,038	0,750	1,788	1,38
414	0,788	0,767	1,555	1,03
415	0,750	1,667	2,417	0,45
420	2,038	1,650	3,688	1,23
426	1,538	2,433	3,971	0,63
434	2,250	0,950	3,200	2,37
436	0,450	0,483	0,933	0,93
441	1,488	1,750	3,238	0,85
444	0,475	0,117	0,992	0,92
446	2,900	0,983	3,883	2,95
451	1,063	1,117	2,180	0,95
452	3,563	2,533	6,096	1,41
455	0,613	0,700	1,313	0,88
456	0,150	0,417	0,567	0,36
458	1,850	0,467	2,317	3,96
484	1,100	2,017	3,117	0,55
491	1,363	1,633	2,996	0,84
492	0,225	0,317	0,542	0,71
493	0,388	0,233	0,621	1,67
495	0,675	1,017	1,692	0,66

Sektion Nr.72/	Leber-Hb	Nieren-Hb	L. + N	$\frac{L}{N}$
	g %	g %		
496	1,988	1,217	3,205	1,63
498	1,525	0,900	2,425	1,69
506	1,263	0,267	1,530	4,73
509	0,225	0,233	0,458	0,97
510	0,588	1,750	2,338	0,34
512	0,288	0,483	0,771	0,60
513	3,243	0,983	4,696	3,78
514	0,925	0,133	1,058	6,95
517	0,513	0,333	0,846	1,54
518	1,425	2,517	3,942	0,57
522	2,538	1,767	4,305	1,44
525	0,238	0,467	0,705	0,51
526	0,775	1,000	1,775	0,78
527	0,513	0,183	0,696	2,80
532	0,350	0,450	0,800	0,78
533	0,313	0,150	0,463	2,09
534	0,525	0,217	0,742	2,42
535	0,500	0,217	0,717	2,30
542	0,413	0,400	0,813	1,03
543	0,238	0,317	0,555	0,75
544	0,550	0,283	0,833	1,94
548	0,263	0,417	0,680	0,63
549	0,375	0,533	0,908	0,70

3. DIE ERGEBNISSE DER HB-BESTIMMUNG.

Wir erhalten entsprechend der unterschiedlichen Durchblutung von Leber und Niere sehr verschiedene Hb-Konzentrationen in g /100 ml Gewebe, also in g %.

Die Werte schwanken bei der Leber zwischen 0,150 und 3,713 g %, bei der Nierenrinde zwischen 0,067 und 2,533 g %. Die Leberdurchblutung kann also das 25-fache, die Nierendurchblutung sogar fast auf das 40-fache der niedrigsten Werte ansteigen.

Es ergeben sich Unterschiede in der Durchblutung zwischen Leber und Nierenrinde, die Hb-Konzentration der Leber liegt im Durchschnitt über der der Nierenrinde. Das ersieht man schon aus den obigen Minimal- und Maximalwerten, es zeigt sich aber vor allem in der durchschnittlichen Hb-Konzentration beider Organe, die wir aus allen 55 Fällen errechneten.

Ø Hb-Konzentration :	Leber :	1,025 g %
	Niere :	0,867 g %

Diese Durchschnittswerte der Hb-Konzentration dürften etwa den Normwerten von gesundem Nieren- und Leberge- webe entsprechen, eher vielleicht etwas zu niedrig liegen, da in den 55 Fällen mehr Fälle mit extrem niedrigem als mit extrem hohem Hb-Gehalt enthalten sind.

Um die Verteilung der Hb- Werte über die verschiedenen Konzentrationsbereiche darzustellen, ordneten wir die Werte, für Leber und Nierenrinde getrennt, untereinander mit steigender Hb-Konzentration an.

Sowohl für Leber- wie für Nierenpräparate erhielten wir die gleiche Verteilungskurve, eine Kurve ohne besondere Häufung der Werte in einem Konzentrationsbereich, aber mit zunehmender Kurvensteigung zu den hohen Hb-Werten hin. Die Steigung ist ein Maß für die Häufigkeit der Hb-Werte, d.h. geringe Steigung, flache Kurvenstücke geben eine große Anzahl von Werten in diesem Konzentrationsbereich wieder, große Steigung bedeutet geringe



Wertezahl in diesem Bereich. Unsere Verteilungskurven zeigen das Abnehmen der Werte-Häufigkeit zu den hohen Hb-Gehalten hin.

Die Kurven für die Leber- und Nieren-Hb-Konzentration fallen fast zusammen, zeigen eine gute Übereinstimmung in Lage und Form. Der höhere durchschnittliche Hb-Gehalt der Leberschnitte gegenüber den Nierenrindenschnitten kommt in der etwas höher liegenden Leberkurve zum Ausdruck.

In einem weiteren Diagramm trugen wir - der Deutlichkeit wegen stark gespreizt - wieder die Nierenwerte mit steigendem Hb-Gehalt auf und dazu aber nun die zu jedem Nierenwert gehörigen Leberwerte, also die Wertepaare Leber- Niere jeder Leiche. Dabei ergibt sich nur ein loser Zusammenhang zwischen Leber- und Nierenrindendurchblutung, die Leberpunkteverteilung folgt zwar ungefähr der Nierenkurve, aber der Hb-Gehalt der Leber macht nicht exakt jede Konzentrationsänderung der Nierenrinde mit. Das war bei den unterschiedlichen Kreislaufverhältnissen beider Organe auch nicht zu erwarten. Bestimmte Faktoren und Veränderungen betreffen mehr die Hb-Konzentration der Leber, andere mehr die der Nierenrinde.

Bei genauerer Betrachtung des Diagramms kann man drei Abschnitte unterscheiden :

- I. Im Anfangsteil (bis Nr. 492) liegen alle Leberwerte deutlich über denen der Niere, und folgen den Nierenwerten in etwa. Es gibt also einen Nieren-Hb-Bereich sehr niedriger Hb-Konzentrationen, in dem die entsprechenden Leber-Hb-Werte immer höher sind.
- II. Im mittleren Kurvenbereich (etwa Nr. 492-405) liegen die Leberwerte knapp unter den Nierenwerten. Abgesehen von einigen Werten, die in diesem Bereich sehr hoch über der Nierenkurve liegen, also ein Vielfaches der Nieren Hb-Konzentration aufweisen und auf die wir noch näher eingehen werden, folgt die Leberwerteverteilung ziemlich exakt der der Nierenrinde.

III. Im letzten Abschnitt, im Bereich hoher Hb-Werte, ist die Beziehung Leber-Niere sehr aufgelockert, die Leberwerte streuen stark um die Nierenkurve herum.

Unter den 55 Hb-Wertepaaren Leber-Niere finden sich 22 annähernde Übereinstimmungen, bei Abweichungen des höheren Wertes vom niedrigeren bis zu 35% (also etwa gleiche Durchblutung beider Organe in 40 % der Fälle).

A. Vergleich mit dem Sektionsprotokoll.

Wir verglichen nun die Hb-Konzentrationen mit den Angaben über die Organdurchblutung im Sektionsprotokoll und stellten eine weitgehende Übereinstimmung fest.

Nachdem diese grobe Orientierung zeigte, daß unsere Messungen die unterschiedlichen Hb-Konzentrationen der Organe wiedergeben, wollten wir den Vergleich mit dem Sektionsprotokoll in umgekehrter Weise dazu benutzen, die Angaben mit unseren Meßwerten zu überprüfen.

Folgende Tabelle mit Protokollangaben über Farbe und Blutgehalt von Leber und Nierenrinde, der wichtigsten Befunde und der Todesursachen umfaßt die 55 Sektionen in derselben Reihenfolge wie im Diagramm, sie ist also nach steigendem Hb-Gehalt der Nierenpräparate reordnet. Die Farbangaben beziehen sich immer auf die Schnittflächen der Organe.

Nr.	Leber	Niere	Besonderes	Todesursache
341	"blaßbraun"	"von bläßer Farbe "	Aorten-, Milz-, Leberruptur; Hämatothorax Hämaskos	Inneres Verbluten
514	"blaßbraun"	"blaßrot"	Hämatothorax li. u. re. allgemeine Blutarmut <u>Leberabszeß(!)</u>	Schock bei schwerem Trauma ge- gen Rumpf u. Schädel
533	"braungraue" "Farbe "	"Eigenfarbe" (!)	Leberdurchschuß; Zerstörungen Nierenhilus re.; hochgradige Blutarmut der inneren Organe.	Verbluten aus zwei Bauchdurch- schüssen.
527	"blaßbraun"	"blaßrot"	Hämaskos (1800ml) Hämatothorax re.; Zerreißung d. li. Niere u. Nierenarterie; Leberdurchschuß; Riß d. Bauchao- rta; allg. Blutarmut.	Verbluten in die Bauchhöhle Todesursache
534	"braune Far- be"	"graue Eigenfarbe"	Hämaskos; Hämatothorax li.; hoch- gradige Blut- armut d. inneren Organe.	Verbluten b. Brust- u. Bauchdurch- schuß.
535	"braun-grau gelb "	"blaß-grau- rot mit Eigenfarbe "	Hämatothorax beids.; Aorten- ruptur; vollst. Zerreißung d. Herzens; hochgr. allg. Blutarmut	Herzversagen b. Zerreiß. d. Herzens inf. Schußverlet- zung.
509	"blaßbraun"	"blaß-grau- braun" "Eigenfarbe d. Nieren"	Bauchaoorta aufgerissen; 1000ml Blut in d. Bauchhöhle; hochgr. allg. Blutarmut.	Verbluten (bei Durch- trennung großer Beckenge- fäße)
493	"blaßbraun"	"blakrot"	Zerreiß. des Herzens, der Leber, der Milz; Aortenruptur; Hämatothorax re. u. li.	Herzversagen b. Zerreiß. d. Herzbeutels u. Eröffnung d. li. Herz- kammer.

Nr.	Leber	Niere	Besonderes	Todesursache
366	"Gewebe ist blutarm"	"graurot"	zertrümmerte Schädelkalotte; Zerreiß. des Herzens u. Herzbeutels; Hämatothorax 2250ml.	Inneres Verbluten
506	"dunkel-braunrot"	"graubraun "	Lungenzertrümmerung; Aufreißung d. Herzbeutels ; Eröffnung d. li. Herzkammer; Aortenabriß; Leber-u. Milzrupturen.	Zentrale Lähmung (Medulla-abriß)
403	"gelbrötl. Farbe " "deutl. Hervortreten d. gelben Farbtönen "	"blaßrosa"	Fettleber; massive Blutung i. Bereich des Pankreas ; 600ml Erguß i. d. Bauchhöhle .	Kreislaufversagen b. Mesenterialvenenthrombose.
544	"blaßbraun"	"blaßrot"	Schäfeldurchschuß; Tangentialschuß am Schädel; Splitterverletzg. Hals u. Schulter; allg. Blutarmut.	Zentrale Lähmung bei ... Schußverl. d. Schädels mit breiter Aufreiß. d. re. Großhirnhälfte.
492	"blaßbraun"	"blaßrot"		Zentrale Lähmung bei Schädelsteckschuß.
543	"blaßbraun"	"blaßrot"	Splitterverletzg. d. Leber; Abtrennung beider Hände ; Splitterverletzg. d. Herzens; Rumpfstückschuß.	Schock bei breiter Aufreißung d. Rumpfvorderseite
517	"braunrot"	"blaßrot"		wahrsch. Herzkreislaufversagen b. Entzündung d. Luftwege u. beginnender Lungenentzünd.
542	"graubraune Farbe, blaß"	"blaßrot"	allgemeine Blutarmut	Zentrale Lähmung bei Schäfeldurchschuß.

Nr.	Leber	Niere	Besonderes	Todesursache
548	"blaßbraun"	"blaßrot"	Hämatothorax re.(1200ml); Schäeldurchschuß; Brustkorbdurchschuß (Hals,Lunge); Schulterdurchschuß; mittelgradige allg. Blutarmut.	Zentrale Lähmung bei...
456	"blaßbraun"	"blaßrot"	Schädelbrüche	Zentrale Lähmung
392	"braun"	"blaßrot"	Nierenstein Pyonephrose; akute passive Blutüberfüllung d.inneren Organe.	Herzversagen b.Herzmuskelhypertrophie u.Lungenan-thrakose.
532	"blaßbraun"	"blaßrötlich"	Hämatothorax (1200ml); Hämaskos(500ml); allg.Blutarmut.	Verbluten in Brust-u.Bauchhöhle infolge Schußverletzg.
458	"braun"	"rot"	Nierenstein re.; hochgradige allg. Arteriosklerose; passive Blutüberfüllung d.Organe.	Lungenembolie (Verkehrsunfall)
525	"schmutzig graubraun"	"blaßgrau-rot"	Lebercirrhose; Hämaskos(2400ml); Blutarmut der Organe	Verbluten in die Bauchhöhle durch zweifache Zerreißg. des Dünndarmgekröses.
436	"braunrot mit gelbl. Farbton"	"Gewebe ist etwas blaß"	Zerreißung der Lungenschlagader; Aortenriß; Hämatothorax li. Bläße d.inneren Organe.	Zentrale Lähmung bei Schädelzertrümmerungen u.Hirnverletzungen.
512	"bräunliche Farbe"	"blaßrote-bläuliche Farbe "	Lungenentzündung; geringgrad. Ascites; Nierensteine li.; Zystenniere li.; Angio-Angi-oloklerose d. Nieren;(Leberstauung ?)	wahrsch.Lungenentzündung; Tablettenintox. ?
444	"blaßbraun-gelblich"	"blaßrot"	akute,passive Blutüberfüllung d.Organe.	Zentrale Lähmung ???

Nr.	Leber	Niere	Besonderes	Todesursache
549	"blaßbraun"	"blaßrot"	Hämatothorax re.(1200ml); Aufreißung d. li.Niere; mittelgradiger Ausblutungszustand d.Organe.	Schock bei Rumpfdurchschuß.
412	"braun "	"dunkelrot "	akute, passive Blutüberfüllung d.inneren Organe.	Lungenentzündung.
455	"braungelb"	"rote Farbe "	weit fortgeschrittene Fettleber.	Zentrale Lähmung bei Schädelbrüchen u.Hirnblutungen.
371	"braungrau"	"blaßgrau-rot "	akute,passive Blutüberfüllung d.Organe; Fruchtausstoßung.	Luftembolie re.Herzkammer.
413	"braungrau"	"blaßrot"	Entzündung des Mittelfelles; Blutung i.d.re. Brusthöhle (850ml);(!) akute passive Blutüberfüllung d.Organe.(!!)	Verbluten i.d.re.Brusthöhle (!!)
414	"braunrot"	"dunkelbraunrot"		Rechtsherzversagen bei rezidiv.Lungenembolien
405	"graubraunrot"	"graurosa "	Durchtrennung d.Unterarmart.; Bläße aller inneren Organe.	Verbluten nach außen.
498	"dunkelbraunrot "	"graubraunrot"	Arterio-Arteriosklerose beid. Nieren; Pyelonephritis; Nierensteinleiden; hochgrad. Einengung beid. Nierenarterien; pass.Blutüberfüllung d.innenen Organe.	wahrsch.Herz-Kreislaufversagen bei Lungenentz.als Folge eines Hochdruckleidens inf.chron. Nierenveränderungen.
434	"dunkelbraunrot "	"dunkelblaurot"	pass.Blutüberfüllung d. inneren Organe.	?

Nr.	Leber	Niere	Besonderes	Todesursache
446	"dunkelbraun"	"dunkelblau- rot"	hochgrad. Stauung der Leber;akute pass.Blutüber- füllung d.Or- gane.	Herzversagen
513	"fleckige grau- braune bis dunkelbraun- rote Zeichnung"	"dunkelbraun- rot"	hämorrhag. Lungenentzün- dung; Herz- außenfellblu- tung.;ductus botalli u.of- fenes foramen ovale; chron. Stauung d. Leber.	Ersticken durch Aspiration.
347	"dunkelbraun"	"dunkelbraun- rot"	Infarcierungen Herzmuskulatur; akute pass. Blutüberfüll- ung d.inneren Organe.	Herzversagen b. Coronarver- schluß li.
526			Blutungen i.d. Schädelhöhle inf.Schädel- bruches.	Zentrale Lähmung
495	"gelbl.fleck. Zeichnung b. grau-braunem Grundton!"	" teils dunkel- blau rot, teils graugelbl. fleckig".	toxische Schä- digung v. Le- ber u. Nieren; Leber u. Nieren;	Herz-Kreis- laufversagen b.entzündl. Veränderungen v.Lunge und Luftwegen.
348	"gelbbraune fleck.Zeichng.	"graubraun- rot"	hochgrad.tox. Schädigung d. Leber u. Nie- ren; Blutun- gen Gehirn u.sub- durale Blut.	Zentrale Lähmung bei Schädelsteck- schuß
451	"dunkelbraun" "blut-u.flüs- sigkeitsreich"	"dunkelblau- rot"	akute pass. Blutüberfüll- ung d.Organe;	Aspiration Ersticken.
496	"dunkelbraun- blau-gelb "	"dunkelblau- rot"	Lebertumor; akute pass. Blutüberfüll- ung d.Organe;	Herzversagen Coronarver- schluß
376	"dunkelbraun- rot"	"Gewebe sehr blutreich"	hochgrad.pass. Blutüberfüll- ung d.inneren Organe.	Stromtod

Nr.	Leber	Niere	Besonderes	Todesursache
491	"dunkelbraun- rot"	"dunkelbraun- rot"		Zentrale Lähmung bei Schädelsteck- schuß.
420	"braunrot"	"dunkelblau- rot"; sehr blutreich"	pass.Blutüber- füllung d.inne- ren Organe.	Ersticken.
415	"braunrot" "gelbl.feinste fleck.Zeich- nung".	"dunkelblau- rot"; sehr blutreich "	Herzaußenfell- blutungen; Blutfülle der inneren Organe.	?
441	"braun "	"dunkelblau- rot"	akute pass. Blutüberfüll- ung d.Organe.	Lungenentzünd- ung bei Lun- genkrebs.
510	"braun"	"dunkelblau- rot"	akute pass. Blutüberfüll- ung d.Organe.	Coronarver- schluß.
522		"dunkelblau- rot"	akute pass. Blutüberfüll- ung d.Organe.	Ersticken bei Unterbrechung d.Blutzufuhr zum Gehirn. (Erhängen)
399	"dunkelbraun- rot"	"dunkelbraun- rot "	akute pass. Blutüberfüll- ung d.inne- ren Organe.	Ertrinken
484	"braun " "fleckig "	"dunkelblau- rot"	akute pass. Blutüberfüll- ung d.Organe.	?
384	"dunkelbraun- rot "	"dunkelbraun- rot "	akute pass. Blutüberfüll- ung d.inne- ren Organe.	Erhängen
426	"dunkelbraun- rot "	"dunkelblau- rot sehr blutreich"	Blutfülle der inneren Or- gane	Schädelsteck- schuß.
518	"dunkelbraun- rot " "etwas gelbl. fleck.Zeichng."	"dunkelblau- rot bis dunkelrot " "sehr blut- reich "	<u>höchstgrad.</u> pass.Blut- überfüllung d. inneren Organe.	Ersticken durch Aspiration.
452	"braunrot "	"dunkelblau- rot " "sehr blut- reich "	Herz schlaff u. ausgeweitet ; Blutaustritte Nierenbecken; Blutfülle der inn.Organe ; Hirnhautblutun- gen.	Zentrale Lähmung (Treppen- sturz).

Die Tabelle zeigt die relativ gute Übereinstimmung der Angaben über Farbe und Durchblutung der Gewebe mit unseren Hb-Werten. Von den Bezeichnungen " blaßrosa " , " graue Eigenfarbe " und " hochgradige Blutarmut " bei den niedrigen Hb-Konzentrationen ändern sich die Bezeichnungen über verschiedene Zwischenstufen zu " dunkelblaurot " , " sehr blutreich " und " höchstgradige Blutüberfüllung der Organe " bei den hohen Hb-Konzentrationen. Daneben finden wir aber auch einige Widersprüche, sowohl einzelner Angaben zueinander, als auch zwischen Angaben im Protokoll und unseren Meßergebnissen :

Bei der Sektion Nr. 413/72 widersprechen die Farbangaben " braungrau " (Leber) und " blaßrot " (Niere) der Bemerkung über den Blutgehalt " akute passive Blutüberfüllung der Organe ". Besonders unverständlich ist hier die Todesursache " Verbluten ", die sich nicht nur mit der obigen Bemerkung, sondern auch mit unseren Hb-Gehalten im Widerspruch befindet. Die Hb-Werte - 1,038 g % für Leber und 0,750 g % für Nierenrinde - befinden sich durchaus im Normbereich. Die Todesursache stützt sich allein auf einen Hämatothorax rechts von 850 ml, also einen noch nicht sicher lebensbedrohlichen Wert. Aus diesen Gründen scheint uns die Todesursache Verbluten hier zweifelhaft zu sein. Die Sektion Nr. 371/72 zeigt, wie wenig differenziert die Angaben über die Blutfüllung sind. Denn bei Hb-Werten von 1,888 g % für Leber und 0,717 g % für Nierenrinde kann sich die Bezeichnung " akute, passive Blutfülle der Organe " allenfalls auf die Leber beziehen, die die 2 1/2- fache Hb-Konzentration der Nierenrinde besitzt und oberhalb des Normbereichs liegt, während sich die Nierenrinde im unteren Normbereich befindet. Auch die Farbangaben " braungrau " für Leber und " blaßrot " für Niere geben diesen erheblichen Unterschied nicht wieder.

Auch zwischen den gleichen Organen verschiedener Sektionen kommen die Unterschiede oft nicht deutlich genug zur Geltung : Die Leber der Sektion Nr. 506/72 mit 1,263 g % wird als " dunkelbraunrot " beschrieben, die von Nr. 371/72 nur

als " braungrau " , obwohl ihr Hb-Gehalt mit 1,888 g % um 50 % höher liegt. Ähnliche Ungenauigkeiten in der Farbbezeichnung lassen sich mehrfach finden. Die meisten Umstimmigkeiten entstehen aber aus den allgemeinen Beschreibungen des Blutgehalts :

1. Sie fehlen in einigen Fällen, in denen sie aufschlußreich wären : z.B.

Sektion Nr. :	Leber g %	Niere g %
543/72	0,238	0,317
517/72	0,513	0,333
512/72	0,288	0,483
493/72	0,388	0,233
492/72	0,225	0,317
456/72	0,150	0,417
403/72	0,775	0,283
366/72	0,663	0,267

Bei diesen Fällen handelt es sich eindeutig um "Blutarmut der inneren Organe", die entsprechenden Bemerkungen fehlen jedoch. Daß es sich dabei um Ungenauigkeiten im Protokoll und nicht um Meßfehler handelt, läßt sich dadurch belegen, daß in allen Fällen " blaße " Organfarben diktiert und in fünf der acht Fälle zum Teil massivste Blutverluste nachgewiesen sind. Nur bei Nr. 366 (Todesursache " Inneres Verbluten " !) fällt wenigstens einmal bei der Beschreibung der Leberfarbe das Wort " blutarm ".

Bei Sektion Nr.	Leber g %	Niere g %
513/72	3,713	0,983
491/72	1,363	1,633

wird die zweifellos vorliegende Blutüberfüllung nicht erwähnt, wobei wir wieder durch die Farbangabe " dunkelbraunrot " für Leber und Niere im Protokoll bestätigt werden.

2. In einer Reihe von Fällen wird die " Blutfülle "- nicht differenziert genug - nur von einem Organ abgeleitet, während sie für das andere nicht zu trifft :

" Blutüberfüllung der Inneren Organe "

Sektion Nr.	Leber g %	Niere g %
371/72	1,888	0,717
392/72	1,325	0,433
458/72	1,850	0,467
498/72	1,525	0,900
376/72	0,513	1,250
415/72	0,750	1,667
484/72	1,100	2,017
510/72	0,588	1,750

Bei den ersten vier Beispielen gilt die Blutfülle nur für die Leber, bei den letzten nur für die Niere. Die Werte für das jeweilige andere Organ liegen im Normbereich oder sehr weit darunter. In den meisten Fällen werden auch hier unsere Hb-Werte durch die Farbangaben zu den einzelnen Organen bestätigt :
 z.B. Nr. 392/72 : "akute passive Blutüberfüllung der inneren Organe "

Leber : 1,325 g %Hb "braune Farbe "
 Niere : 0,433 g %Hb " blaßrot "

Ebenso trifft die allgemeine Blutarmut - allerdings nur selten - nur für ein Organ zu und zwar :

Sektion Nr.	Leber g %	Niere g %
405/72	0,288	0,867 nur f. Leber
514/72	0,925	0,133 nur f. Niere

Hier werden wir nicht durch die Organfarbangaben bestätigt :

Nr. 405/72	Niere :	" graurosa "
Nr. 514/72	Leber :	" blaßbraun "

Die Organe, für die die Blutarmut nach unseren Zahlen nicht zutrifft, werden also ebenfalls als " blaß " beschrieben. Die Fälle sind noch in anderer Hinsicht ungewöhnlich, weshalb wir in anderem Zusammenhang noch auf sie zurückkommen werden.

3. In einigen Fällen sind die Angaben des Blutgehalts einfach falsch :

Nr. 413/72	Leber g %	Niere g %	Leber	Niere
	1,038	0,750	" braungrau "	"blaßrosa "
	- akute passive Blutüberfüllung ... " -			
Nr. 412/72	0,375	0,600	" braun "	"dunkelrot "
	- akute passive Blutüberfüllung ... " -			
Nr. 444/72	0,475	0,517	"blaßbraun"	"blaßrosa"
	- akute passive Blutüberfüllung ... " -			

In allen drei Fällen wird also Blutüberfüllung diktiert, während nach unseren Werten Blutarmut oder, wie im ersten Fall, normaler Blutgehalt herrscht.(Weitgehende Bestätigung unserer Werte, durch die Angaben zur Organfarbe).

4. Natürlich sind alle diese Angaben auch dann noch ungenau, wenn sie zutreffen, denn ein Leberpräparat mit 0,52 g% Hb wird ebenso als blutarm bezeichnet wie eines mit 0,26 g% - und das mit Recht - aber die erheblichen Unterschiede im Bereich der Blutarmut werden nur selten realisiert. Auch die Unterteilung in hochgradige, mittelgradige, allgemeine und geringgradige Blutarmut bzw. Blutfülle bringt keine wesentlichen Vorteile, da sie, nicht genau definiert, zu willkürlich und subjektiv angewendet

wird, eher im Sinne austauschbarer Floskeln :

Protokollangaben :	Deber g%	Niere g%	Sektions Nr.
"hochgradige Blutarmut"	0,525	0,217	534/72
"mittelgradige Blutarmut"	0,375	0,533	549/72
"allgemeine Blutarmut"	0,550	0,283	544/72

Trotz der nicht übereinstimmenden Fälle finden wir - die Ungenauigkeit von 1.) und 4.) als Übereinstimmung gerechnet - in 46 von unseren 55 Fällen eine recht gute Korrelation zwischen unseren Hb- Werten und den Angaben im Sektionsprotokoll, Übereinstimmung in etwa 84% also.

Alle Ungenauigkeiten und die Gegensätze (16%) können zu einem großen Teil durch widersprüchliche Angaben im Sektionsprotokoll zu unseren Gunsten bestätigt werden und dürften praktisch vollständig durch die subjektiv unterschiedlichen Angaben der Obduzenten zustande kommen. Diese subjektiven Angaben leiden zu sehr unter persönlichen Einflüssen (Sektions-Erfahrung, Farbgedächtnis etc. , Tagesverfassung ?) und unter äußeren Faktoren (Beleuchtung, Farbeindruck gerade vorher sezierter Organe, etc.), also letzten Endes am Fehlen objektiver Vergleichsfarben, als daß sie immer richtig und vergleichbar sein könnten.

Für exakte, unter allen Sektionen vergleichbare Farb- und Blutgehaltsangaben bietet sich deshalb eine solche Organfarb- und Hb-Bestimmungsmethode an.

(2) Vergleich der Hb-Werte mit Todesursache und Organveränderungen.

Beim Vergleich der Hb-Konzentrationen mit der Todesursache, b w. mit pathologischen Organveränderungen ergaben sich folgende Ergebnisse :

I. VERBLUTEN, BLUTVERLUST.

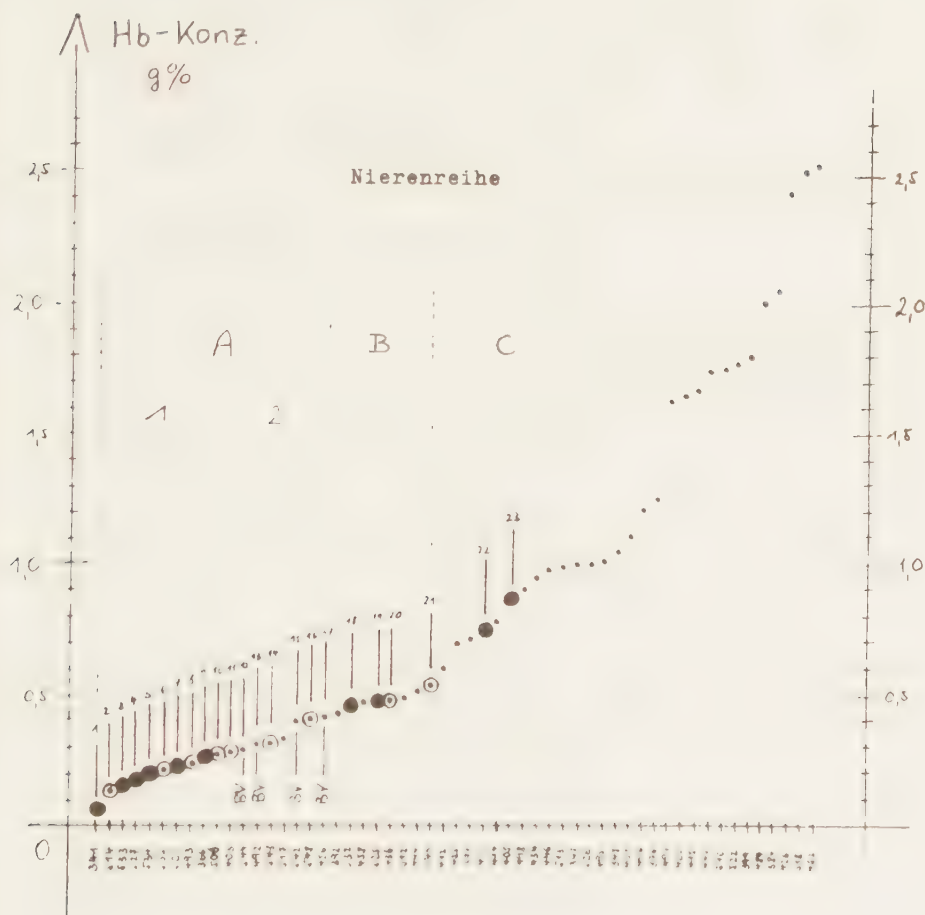
Im ersten Abschnitt der Verteilungskurve, also im Bereich geringer Hb-Konzentrationen, häufen sich die Fälle von unterschiedlich starken Blutverlusten, besonders die massiven inneren und äußeren Blutungen, sowie die Todesursache " Verbluten ".

Bei den 18 niedrigsten Hb-Werten der Nierenrinde (Abschnitt A, Hb-Gehalt von 0,067 bis 0,42 g%), Sektions Nr. 341 - 548/72 der Nierenreihe, handelt es sich nur um Fälle mit Verletzungen und Blutverlusten, die allerdings unterschiedlich stark sind. Bei den ersten 10 Fällen (0,067 - 0,27 g%, Abschnitt A1) finden wir sechs mal die Todesursache " Verbluten ", die übrigen vier Fälle weisen schwerste Verletzungen (dreimal Zerreißung des Herzens und Aortenrupturen etc.) und Blutverluste auf. Hier sind zwar als Todesursachen andere Angaben gemacht, Angaben, die in diesen Fällen als Primärursache mehr in Frage kommen als Verbluten (z.B. Herzversagen bei den Fällen von Zerreißung des Herzens oder Zentrale Lähmung in einem Fall, in dem außer Lungenzertrümmerung, Eröffnung der li. Herzkammer, Aortenabri, Leber- und Milzrupturen als Primärtodesursache ein Medullaabriß vorliegt) aber es steht bei der Schwere der Verletzungen außer Zweifel, daß auch hierbei ein ähnlicher Ausblutungszustand wie beim Verbluten vorliegt.

Der Zusammenhang Verblutungstod und ähnlicher Ausblutungs-zustände mit dem Hb-Gehalt von Leber und Nierenrinde kommt in unseren Meßwerten und im Diagramm also sehr deutlich zum Ausdruck, er ist bei Nieren-Hb-Werten bis etwa 0,27 g% sogar zwingend.

1	341	Verbluten
2	514	Schock bei schwerem Trauma gegen Rumpf und Schädel; Hämatothorax li. und re.
3	533	Verbluten

VERBLUTEN UND BLUTVERLUSTE



- ----- Verblutungsfälle
- ----- schwerste Blutverluste
- BV ----- Blutverluste geringerer Art

4	527	Verbluten
5	534	Verbluten
6	535	Herzversagen b. Zerreißung d. Herzens inf. Schußverletzung : (3 Schue i.d. Brust) ; Hämatothorax li. und re. ; Aortenruptur.
7	509	Verbluten
8	493	Herzversagen b. Zerreißung d. Herz - beutels und Eröffnung der li. Herz - kammer; Hämatothorax li. und re. ; Aorten-, Leber-, Milzzerreiungen.
9	366	Verbluten
10	506	Zentrale Lähmung (Medullaabriß) ; Lungenzertrmmernng; Eröffnung li. Herzkammer; Aorten-, Milz-, Leberrup- turen.

Ab Hb- Werten von 0,27 g% aufwärts treten Verbluten und schwere Blutverluste mehr und mehr in den Hintergrund. Von 0,27 bis 0,42 g% (= A2) herrschen noch Verletzungen vor, die Blutverluste sind aber hier zum Teil schon geringer :

11	403	Kreislaufversagen b. Mesenterialvenenthrom- bose ; massive Blutungen im Bereich d. Pankreas.
12	544	Zentrale Lähmung bei Schdelchuverletzung; allgemeine Blutarmut.
13	492	Zentrale Lähmung bei Schädelsteckschuß
14	543	Schock bei breiter Aufreißung der Rumpfvor- derseite; Abtrennung beider Hände ; Splitterschaden des Herzens und der Leber.
	517	(wahrscheinlich (!) Herz-Kreislaufversagen)
15	542	Zentrale Lähmung bei Scheldurchschu ; all- gemeine Blutarmut .
16	548	Zentrale Lähmung ; Scheldurchschu, Schul - terdurchschu, Brustkorbdurchschu ; Hämatothorax re. 1200 ml
17	456	Zentrale Lähmung ; Schelbrche .

ber 0,42 g% Hb-Gehalt erhalten wir einen Mischbereich,
(Abschnitt B), in dem neben Fällen mit Blutverlusten und

zwei Fällen mit Verbluten als Todesursache in etwa gleicher Zahl auch andere Organveränderungen und Todesursachen vorkommen. Ein solcher fließender Übergang zu Fällen niedrigen Hb-Gehalts anderer Genese als Verletzungen und Blutverlust und schließlich zu Fällen normaler Hb-Konzentration ist zu erwarten.

	392		Herzversagen b. Herzmuskelhypertrophie und Lungenanthrakose.
18	532	Verbluten	
	458		Lungenembolie
19	525	Verbluten	
20	436	Zentrale Lähmung bei Schädelzertrümmerung u. Hirnverletzungen ; Zerreißung der Lungenschlagader; Aortenriß ; Hämatothorax li. ; Blässe der inneren Organe.	
	512		Lungenentzündung
	444		Zentrale Lähmung (keine Blutungen!)
21	549	Schock bei Rumpfdurchschuß; Hämatothorax re. 1200 ml ; Aufreißung der Niere li.; mittelgradig. Ausblutungs- zust. der Organe.	

Dieser Übergangsbereich- ohnehin nur klein, wenn man bedenkt, wie flach die Verteilungskurve hier verläuft - geht etwa von 0,42 bis 0,55 g% Hb.

Im Kurvenbereich über 0,55 g% (Abschnitt C) finden sich keine Ausblutungsfälle und auch keine geringeren Blutverluste mehr, wenn man zwei Fälle von Verbluten als angegebene Todesursache außer acht läßt. Diese beiden Verblutungsfälle erscheinen in mehrfacher Hinsicht zweifelhaft : Der erste Fall (Nr.22 im Diagramm) ist die schon bei der Diskussion der Protokollangaben erwähnte Nr. 413/72. Aus den dort angeführten Gründen halten wir die Todesursache " Verbluten " in diesem Fall für falsch.

Im zweiten Fall (Sektion Nr. 405/72) läßt sich nicht so

leicht argumentieren, hier sprechen beschriebene Organfarbe, Angaben über den Durchblutungszustand (" Blässe aller inneren Organe ") und Todesursache (" Verbluten nach außen ") übereinstimmend gegen unseren normalen Nierenrinden-Hb-Wert von 0,867 g%. Zwar wurden bei der Sektion damals einige Zweifel an dem ganzen Fall angemeldet, weil das Verbluten nach Durchtrennung der Unterarmarterie zustande kam und nach Aussagen von Zeugen, die bei dem Suicid dabeigewesen sein wollen (!), es sich um eine Art Muthbeweis des volltrunkenen Mannes gehandelt haben soll, der sich angeblich in keiner suicidverdächtigen Stimmung befunden hatte. Außerdem waren weder an der Leiche selbst noch an deren Auffindungsort größere Blutmengen gefunden worden. Bei der Sektion konnte aber keine andere Todesursache gefunden und der Verdacht eines Täuschungsmanövers nicht bestätigt werden.

Nachdem bei der Leiche gleichzeitig ein ausgesprochen niedriger Leber-Hb-Wert von 0,288 g% vorhanden war und die Leberwerte nur selten so weit unterhalb der Nierenwerte liegen, muß wohl angenommen werden, daß der Hb-Wert von 0,867 g% für die Nierenrinde falsch ist. Jedenfalls gehören - so oder so - die beiden strittigen Verblutungsfälle nicht in den Bereich über 0,55 g%.

In gleicher Weise wie für die Nierenrinde wurde auch ein Vergleich mit den Leber-Hb-Werten durchgeführt. Dabei ergibt sich ebenfalls eine Häufung der Ausblutungsfälle bei den niederen Hb-Werten (bis etwa 0,5 g%), ein Übergangsbereich mit nur noch einzelnen Fällen bei mittleren Hb-Werten (etwa 0,5-1,0 g%) und schließlich ein Abschnitt ohne Blutungsfälle über 1,0 g%. Die Häufung der Fälle bei niedrigen Hb-Werten ist aber bei der Leber nicht so ausschließlich wie bei den Nierenwerten (in jedem Bereich kommen daneben auch andere Fälle vor) und erstreckt sich auch auf einen größeren Hb-Bereich.

Die Fälle von Blutverlust und Verbluten zeigen sich also deutlicher und genauer bei der Niere, die funktionell in

↑ Hb-Konz.
g %



den arteriellen Teil des Kreislaufs eingeschaltet ist, als bei der Leber, deren funktioneller Kreislauf von kapazitiven Gefäßen gespeist wird und die selbst eine erhebliche Speicherfunktion des Blutes besitzt. Das Blutdepot Leber wird wohl auch bei Verblutungsfällen nicht vollständig entleert, sodaß der Leber_Hb-Gehalt in solchen Fällen höher als der der Nierenrinde ist. Deshalb liegen im ersten Abschnitt der Verteilungskurve die Leberwerte alle über den Nierenwerten. Dieser Abschnitt I der Verteilungskurve fällt überraschend gut mit den zehn Ausblutungsfällen der Nierenreihe (= A1) zusammen. Blutverluste treffen also in erster Linie die Niere, sind charakterisiert durch extrem niedrige Nierenrinden-Hb-Konzentrationen bei niedrigen bis mittleren Leber-Hb-Konzentrationen und relativ hohem Verhältnis von Leber-Hb-Wert zu Nieren-Hb-Wert ($V = \frac{L}{N}$). Bei den besonders niedrigen Hb-Werten der Niere spielt wahrscheinlich in einigen Fällen auch die Ausbildung einer Schockniere mit entsprechender Drosselung der Blutzufuhr eine Rolle. Da die Leberdurchblutung davon nicht betroffen ist, erscheint der Hb-Gehalt der Leber sehr hoch gegenüber der Niere, es ergibt sich ein extrem hohes V. Wir werden darauf noch zurückkommen.

Innerhalb der Ausblutungsfälle kommen die verschiedenen Hb-Werte vor allem durch die Größe des Blutverlusts zustande, die wiederum von der Ausblutungszeit und der Art der Verletzungen abhängt. Verschiedene Ausblutungszeiten (Zeit zwischen Eintritt der Verletzung und Herzstillstand) entstehen durch unterschiedliche individuelle Faktoren (a) und durch unterschiedliche Mengen verlorenen Blutes pro Zeiteinheit (b).

- a) Die letale Menge liegt beim Blutverlust bei etwa 70% des Gesamtblutvolumens, jedoch schwankt diese Größe entsprechend den individuellen Faktoren, vor allem Alter und körperliche Verfassung (Gesundheitszustand, Widerstandskraft) erheblich. So können unterschiedlich hohe Blutverluste tödlich sein und der Organ-

Hb-Gehalt entsprechend der Restblutmenge nach dem Verbluten verschieden sein.

- b) Unterschiedliche Ausblutungszeiten können auch durch verschieden schnelles Verbluten- abfließendes Blutvolumen pro Zeiteinheit- zustande kommen, denn bei großen Blutvolumina pro Zeit wird die kritische Grenze und damit der Todeseintritt schneller erreicht als bei kleinen. Da beim Verbluten rund zwei der fünf Liter Gesamtblutmenge aus Organdepots (Leber,Lunge etc.) mobilisiert werden müssen und dafür wohl eine gewisse Zeit erforderlich ist, können beim schnellen Verbluten aus großen " Lecks " durch schnellen Todeseintritt die Organdepots nicht mehr so vollständig entleert werden wie beim langsamen Verbluten, sodaß sich unterschiedliche Restblutmengen und Hb-Konzentrationen der Depotorgane ergeben.

Bei umfangreichen Verletzungen führen oft Läsionen lebenswichtiger Organe zu einem vorzeitigen Todeseintritt vor dem endgültigen Verbluten und damit zu verkürzter Ausblutungszeit bzw. erhöhtem Blutgehalt der Organe. In solchen Fällen taucht die oft schwierige Frage nach der primären Todesursache auf, z.B.-bei Verletzungen des Herzens- Verbluten oder Herzversagen.

Die Abhängigkeit der Hb-Gehalte von den Verblutungszeiten und -umständen läßt sich am " Depotorgan " Leber zeigen :

1	509	0,225 g%	" Verbluten bei Durchtrennung großer Beckengefäße ".
2	525	0,238 g%	" Verbluten ... durch zweifache Zerreißung d. Dünndarmgekröses "
3	405	0,288 g%	" Verbluten nach außen " (Durchtrennung d.Unterarmarterie)
4	533	0,313 g%	" Verbluten aus zwei Bauchdurchschüssen"; Leberdurchschuß; Zerstörungen am Nierenhilus re.

5	532	0,350 g%	"Verbluten in Brust-u.Bauchhöhle infolge Schußverletzung".
6	341	0,388 g%	" Inneres Verbluten;Aortenruptur; Milz-,Leberruptur",
7	527	0,513 g%	" Verbluten in die Bauchhöhle"; Zerreißung der li.Niere und Nierenarterie ; Leberdurchschuß; Riß der Bauchaorta.
8	534	0,525 g%	" Verbluten bei Brust-und Bauchdurchschuß ".
9	366	0,663 g%	" Inneres Verbluten" ; Zerreißung des Herzens und d.Herzbeutels. Hämatothorax 2250 ml.
506	1,263 g%		" Zentrale Lähmung bei Medullaabriß " Eröffnung der li.Herzkammer ; Aortenriß; Leber-, Milzrupturen.

Der Fall Nr. 10 im Diagramm(413/72) ist der erwähnte, unserer Ansicht nach nicht zu den Verblutungen gehörende Fall, der sich auch bei der Leber typischerweise am weitesten zu den hohen Hb-Werten hin absetzt und aus dieser Betrachtung ausgenommen werden muß. Die neun übrigen Verblutungsfälle sind nach steigendem Leber-Hb-Gehalt angeordnet. Die drei niedrigsten Hb-Werte finden wir bei Fällen mit reinen Gefäßverletzungen, bei denen es sicher zum langsamen und vollständigen Ausbluten kam - Entleerung der Depots, geringer Leber-Hb-Gehalt (1,2,3).

Höhere Hb-Werte finden wir in den Fällen mehrfacher Verletzungen (" Verbluten aus zwei Bauchschnüssen", "Verbluten in Brust- und Bauchhöhle ") in denen das schnellere Ausbluten aus größeren " Lecks " zum Tod vor vollständiger Mobilisierung des Depotbluts führte - höhere Restblutmenge in der Leber (4,5).

Aus demselben Grund sind die Hb-Werte von 6 und 7 noch höher - noch schnelleres Ausbluten durch eine große Zahl von schweren Verletzungen mehrerer wichtiger Organe (Leber, Milz, Nieren). Bei beiden Fällen finden wir zusätzlich auch Aortenrupturen, also zweifellos ein noch schnelleres Ver-

bluten als bei 4,5 mit entsprechend hoher Depotblutmenge. Den höchsten Hb-Wert aller Fälle von Verbluten haben wir typischerweise bei einem Fall von Herzerreißung (9), bei dem der plötzliche Volumenabfall durch Entleerung des Herzlumens und der großen Gefäße und der Fortfall der Förderleistung des Herzens zum praktisch sofortigen Tod ohne größere Entleerung der Organblutdepots führen. Der Leber-Hb-Gehalt nimmt also mit Umfang und Schwere der Verletzungen zu und nicht, wie vielleicht erwartet, ab. Interessant ist in dem Zusammenhang der Vergleich mit einem Ausblutungsfall, der zwar keinen Blutungstod darstellt - Todesursache " Zentrale Lähmung " -, dessen Ausblutungszustand, am Nieren-Hb-Gehalt von 0,267 g% gemessen, aber den Verblutungsfällen entspricht. (Eröffnung der li. Herzkammer, Aortenriß etc.). Hierbei finden wir trotz des sehr kleinen Nierenwerts den höchsten Leber-Hb-Wert aller Fälle mit Blutverlust, einen Wert, der mit 1,263 g% sogar über den Normalwerten liegt. Der sofortige Tod durch Zentrale Lähmung bei einem Medullaarriß (reflektorischer Herzstillstand!) konserviert die Durchblutungsverhältnisse in den kapazitiven Organen, es wird kein Blut mehr aus der Leber abtransportiert. Für die Niere als nichtkapazitives Organ gilt, daß

- 1.) auch sehr schnelles Verbluten zu weitgehender Blutleere in der Niere führt - kein Depot ! - , sich die Zusammenhänge zwischen Hb-Gehalt und Blutungszeit hier nicht zeigen lassen ;
- 2.) große Lecks im Herzen oder den Widerstandsgefäßen (wie im oben genannten Fall) auch nach Kreislaufstillstand zu einer gewissen Blutleere der Nieren führen können - retrogrades Druckgefälle der Nierenarterien -, während die Leber nur aktiv leergepumpt werden kann (nach Kreislaufstillstand versackt das Blut in den kapazitiven Gefäßen) ;
- 3.) die Niere durch ihren hohen Anteil an der Gesamtdurchblutung des Körpers (20%) bei gleichzeitig

geringer Volumenkapazität empfindlich auf jede Volumenänderung reagiert, ihr Hb-Gehalt also ein Maß für die Größe des Blutverlustes ist, während bei der Leber das Depot diese Unterschiede verwischt, der Leber-Hb-Gehalt aber den Grad der Depotentleerung und damit die Ausblutungszeit anzeigt (Überlebenszeit ?) ;

- 4.) der Hb-Gehalt der Niere durch regulative Maßnahmen - Drosselung der Blutzufuhr, Schock - aktiv herabgesetzt werden kann.

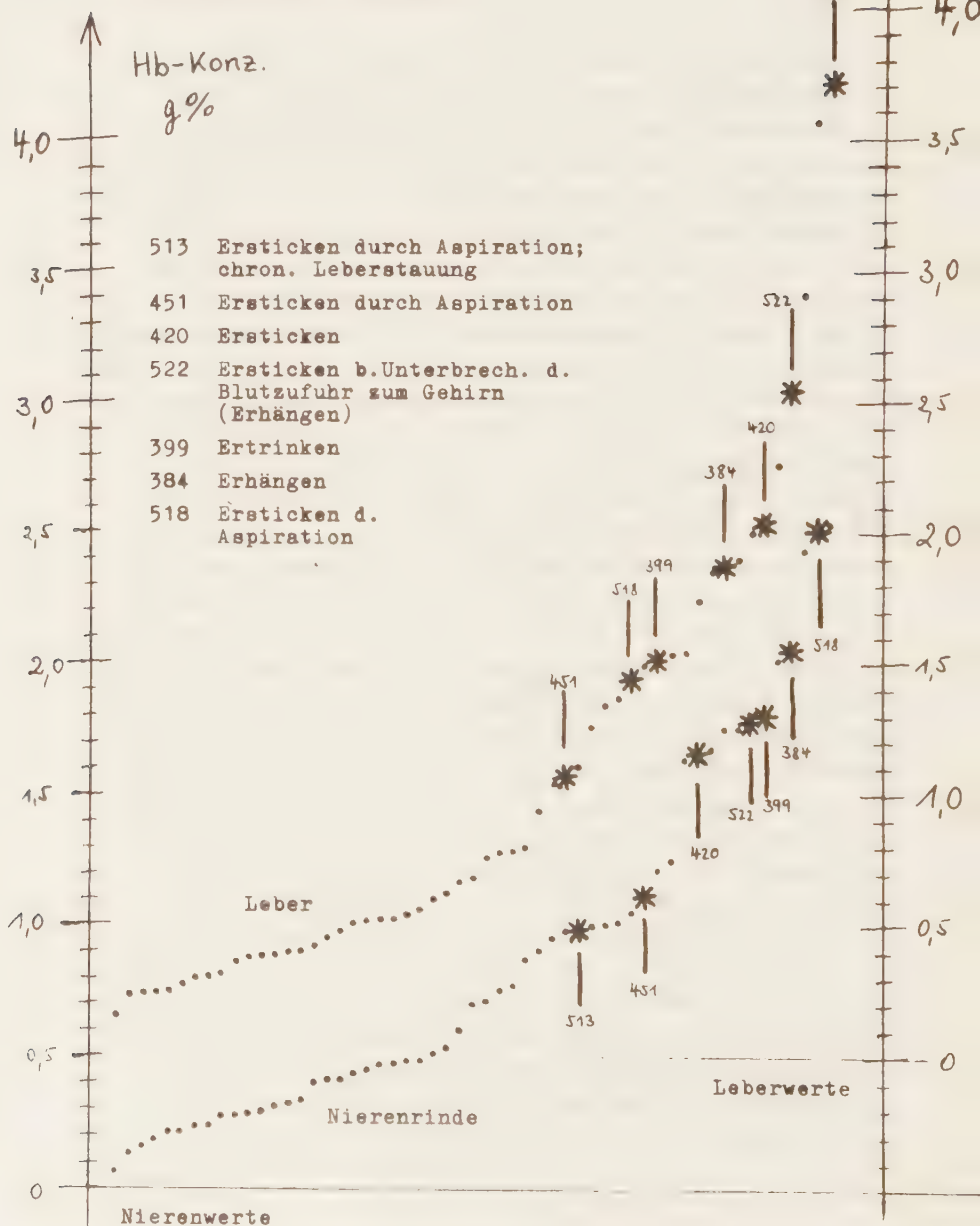
Wie sehr der Leber-Hb-Gehalt vom Depotcharakter des Organs und von aktiven Entleerungsvorgängen bestimmt wird, zeigt auch die Tatsache, daß paradoxerweise die Hb-Werte in den Fällen mit schweren Leberverletzungen relativ hoch liegen, meist höher als bei Verblutungsfällen mit intakter Leber. Sogar bei dem extrem hohen Leber-Hb-Gehalt bei Sektion Nr. 506/72 lagen Leber- und Milzrupturen vor ! Natürlich stellen diese Verletzungen meist ein sehr großes " Leck " mit entsprechend schnellem Verbluten dar, sodaß der hohe Hb-Gehalt im schon erwähnten Sinn durch die unvollständige Depotentleerung erklärt werden kann. Dazu kommt aber sicher auch, daß das verletzte Gewebe, vom Kreislauf abgeschnitten, aus den normalen Strömungsverhältnissen herausgenommen an den aktiven Ausblutungsvorgängen nicht mehr teilnimmt und durch seine schwammartige Konsistenz den Blutgehalt weitgehend behält.

Zusammenfassend kann man sagen, daß sich die Fälle von Blutverlust und Verbluten gut in den Hb- Werten von Nierenrinde und Leber darstellen, daß der Zusammenhang solcher Fälle mit dem untersten Hb-Wertebereich der Nierenrinde so exakt und ausschließlich ist, daß man ihn zur Diagnose " Verbluten " heranziehen könnte. Unterschiedliche Struktur, Kreislauf- und Strömungsverhältnisse zwischen Leber und Niere - vor allem geringer Druck und große Volumenkapazität bei der Leber gegenüber hohem Druck und geringer Kapazität in der Niere- führen zu unterschiedlichem Verhalten beim Verblutungsvorgang.

II ERTRINKEN, ERSTICKEN, ERHÄNGEN

Beim Vergleich der Hb-Werte mit den Todesursachen ergaben sich besonders hohe Hb-Konzentrationen sowohl der Leber wie der Nierenrinde in allen Fällen von Unterbrechung der äußeren Atmung, also beim Erstickten, Ertrinken, Erhängen. Diese Fälle häufen sich deshalb im obersten Teil der Leber- und Nierenkurve, im Bereich der größten Hb-Werte an. Sie finden sich bei der Leber ab Hb-Werten von 1,063 g% aufwärts, bei der Nierenrinde ab 0.983 g%. Durch die individuellen Durchblutungsunterschiede der beiden Organe ergibt sich eine unterschiedliche Reihenfolge der Fälle in den beiden Kurven, d.h. die Blutüberfüllung betrifft in einem Fall stärker die Leber, im anderen stärker die Niere. Zum Teil lassen sich diese Unterschiede aus dem Sektionsprotokoll erklären, z.B. bei Sektion Nr. 518/72, wo der niedrigere Hb-Gehalt der Leber im Vergleich zur Niere wahrscheinlich durch pathologische Veränderungen an der Leber - Fettleber? - zustande kommt, denn die Leber wird mit " etwas gelblich fleckiger Zeichnung " beschrieben ; oder z.B. bei Sektion Nr. 513/72, wo der erheblich größere Hb-Wert der Leber gegenüber der Niere (der höchste Hb-Wert aller Versuche !) durch eine chronische Leberstauung bei ductus arteriosus apertus und offenem foramen ovale zu erklären ist. Die für beide Organe grundsätzlich gleiche Blutüberfüllung beim Erstickten wird also durch die von unterschiedlichen Organveränderungen hervorgerufenen speziellen Durchblutungsunterschiede zwischen Leber und Niere überlagert. Die Blutüberfüllung dieser Fälle von Erstickten, Ertrinken, Erhängen, wird auch im Sektionsprotokoll beschrieben und damit unsere Meßwerte bestätigt. Die Blutüberfüllung von Leber und Niere - bei anämischer Milz - gehört zu den charakteristischen Merkmalen auf diese Weise Verstorbenen. Das Verhältnis $V = \frac{L}{N}$ ist in diesen Fällen etwas größer als 1 (etwa zwischen 1 und 2), also ganz ausgeglichen

ERSTICKEN, ERTRINKEN, ERHÄNGEN



wegen der etwa gleichen Blutüberfüllung beider Organe mit wenig größerem Hb-Gehalt der Leber.

III HERZVERSAGEN, FÄLLE MIT EINFLUSSSTAUUNG.

Ebenso wie bei den Erstickungsfällen finden wir besonders hohe Leber-Hb-Werte bei allen Veränderungen und Todesursachen, die mit einer Einflußstauung vor dem rechten Herzen einhergehen (Rückstau ins kapazitive Gefäßsystem und in die Leber, erhöhte Blutfüllung der Leber).

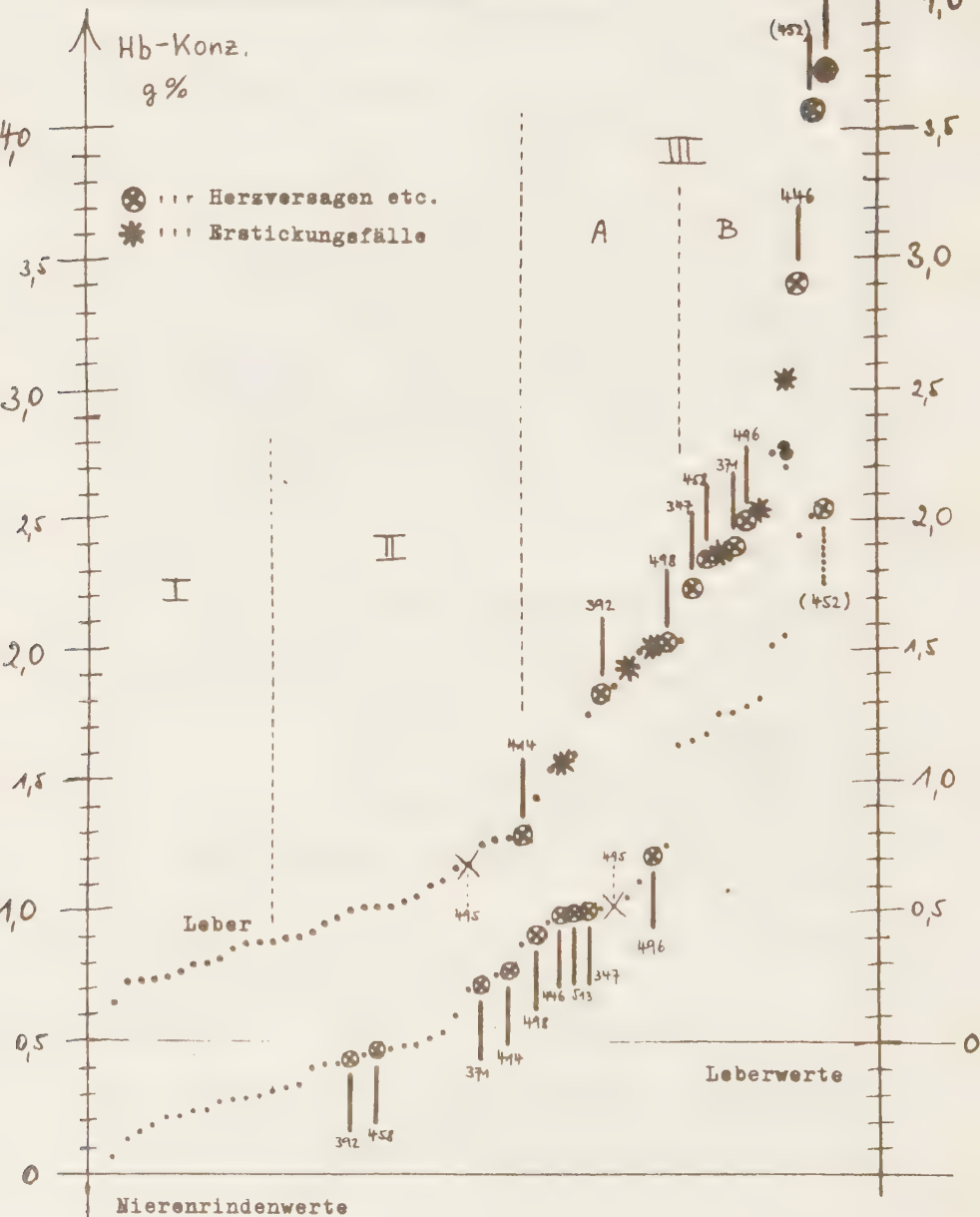
Das betrifft vor allem die Fälle von Rechtsherzversagen bei Lungenembolien, pulmonaler Hypertonie (mit dekompensierter Rechtsherzinsuffizienz), Myokardinfarkten, etc. Dieser Rückstau betrifft in erster Linie die Leber und kann die Niere, sodaß wir im Gegensatz zu den Erstickungsfällen hohe Leberwerte bei normalen Nierenwerten finden, also besonders hohes V.

- 414 " Rechtsversagen bei rezidivierenden Lungenembolien "
- 392 " Herzversagen bei Herzmuskelhypertrophie u. Lungenanthrakose ".
- 448 " Herz-Kreislaufversagen bei Lungenentzündung als Folge eines Hochdruckleidens inf. chron. Nierenveränderungen "
- 347 " Herzversagen bei Coronarverschluß li. "
- 458 " Lungenembolie "
- 371 " Luftembolie re. Herzkammer "
- 496 " Herzversagen (Coronarverschluß) "
- 446 " Herzversagen ", " hochgradige Stauung der Leber "
- 513 " Ersticken durch Aspiration "
- + " ductus totalis und offenes foramen ovale ; chron. Stauung der Leber.

Zum Vergleich : 495 " Herz-Kreislaufversagen b. entzündlichen Veränderungen von Lunge und Luftwegen. "
" Toxische Schädigung von Leber und Nieren ."

Die Ausbildung einer Rechtsherzinsuffizienz mit entsprechender Einflußstauung und Blutüberfüllung der Leber ist in allen Fällen einsichtig. Die Druckerhöhung vor dem rechten

HERZVERSAGEN, FÄLLE VON EINFLUSSSTAUNUNG



Herzen bei den Lungendestruktionen (Anthrakose), beim allgemeinen Hochdruck und zusätzlicher Lungenentzündung, sowie den mechanischen Strömungshindernissen (Lungenembolien, Luftembolie der rechten Herzkammer) ist zu erwarten. Auch bei den Coronarverschlüssen kann über Herzinsuffizienz und Einflußstauung zum Rückstau in die Leber kommen. Bei Sektion Nr. 513/72 handelt es sich zwar um Erstickten als Todesursache aber gleichzeitig ist die Druckerhöhung im und vor dem rechten Herzen durch ductus botalli und offenes foramen ovale gesichert. Außerdem wurde die chronische Leberstauung im Protokoll vermerkt.

Die Sektion Nr. 452/72 wurde nur mit Vorbehalt in diesem Zusammenhang angekreuzt, da es sich um Todesursache " Zentrale Lähmung " handelt und der Fall in Bezug auf den sehr hohen Nieren-Hb-Gehalt nicht typisch ist. Weil aber das Herz als " schlaff und ausgeweitet " diktiert ist, liegt auch hier der Verdacht einer Herzinsuffizienz mit entsprechender Einflußstauung nahe.

Zum Vergleich mit den beschriebenen Fällen von Herzversagen durch Drucküberlastung des rechten Herzens trugen wir in die Kurven mit Sektion Nr. 495/72 einen Fall von Herz-Kreislaufversagen ein, der wahrscheinlich durch toxische Schädigung (bei entzündlichen Lungenveränderungen) zustande kam und der deshalb die Rückstauphänomene, die Leberblutüberfüllung nicht zeigt.

Dagegen lassen sich alle Fälle von Rechtsherzversagen in dieses Schema : erhöhter Leber-Hb-Genalt infolge Rückstaus vor dem rechten Herzen bei etwa normalem Nierenrinden-Hb-Gehalt einfügen. Das gleiche Bild zeigen auch alle Fälle ohne Herzversagen, bei denen eine Einflußstauung verschiedener Ursache bestand.

Einen interessanten Hinweis auf die Genauigkeit unserer Methode liefert die Betrachtung der Nierenwerte dieser Fälle, die sich, wie erwähnt, etwa im Normalbereich von 0,75 bis 1,00 g % befinden. Nur zwei Werte setzen sich deutlich nach unten, mehr in den Bereich der Blutverluste etc.,

ab, die Nierenwerte von Nr.392 (0,43 g%) und Nr.458(0,47 g%). Diese beiden Fälle zeigen pathologische Nierenveränderungen, die ihren niedrigeren Hb-Gehalt erklären :

- 392 Nierensteinleiden ;Pyonephrose
- 458 Nierensteinleiden; hochgrad.allg.Arteriosklerose rechts.

In die Leberkurve wurden zu den Fällen von Herzversagen auch die Erstickungsfälle nochmal mit eingetragen, um zu zeigen, daß diese Fälle zusammen fast den ganzen oberen Kurventeil der Leberkurve bilden, den dritten Abschnitt der Verteilungskurve, den wir als den Bereich relativ großer Divergenz zwischen Leber- und Nierenwerten charakterisierten. Von den insgesamt 24 Werten dieses oberen Abschnitts der Leberkurve entsprechen 16 den oben genannten Fällen, zwei sind unbekannte Todesursachen (Fragezeichen im Diagramm) ohne besondere Organveränderungen.

Die sechs restlichen Werte kann man in zwei Gruppen unterteilen,

- 1.) drei Werte, Nr. 491 Schädelsteckschuß
441 Lungenentzündung bei Lungenkrebs
426 Schädelsteckschuß,

bei denen sowohl Leber- wie Nierenrindendurchblutung gleichermaßen stark erhöht sind und

- 2,) drei Ausblutungsfälle, die sich ganz am Anfang des oberen Abschnitts, noch im Bereich etwa normaler Leber-Hb-Werte befinden :

Nr. 514
(413)
506

Nr. 413 ist der schon erwähnte, stark angezweifelte Verblutungsfall, die beiden anderen weisen - ebenfalls schon angeführt - bei niedrigem Nieren-Hb-Wert durch schnellen Todeseintritt (Depotentleerung) vergleichsweise hohe Leber-Hb-Werte auf (506 = Medullaabriß !). Bei Nr. 514/72 kommt der hohe Leberwert möglicherweise zusätzlich durch eine pathologische Organveränderung,

ein Leberabszeß zustande.

Allen sechs Werten ist gemeinsam, daß sie sich in der unteren Hälfte (III A) des oberen 24-Werteabschnitts der Leberkurve befinden ; ab Nr. 347 aufwärts, ab Leber-Hb-Werten von 1,74 g% (= Abschnitt III B), gibt es nur noch die besprochenen Fälle der Gruppen II und III, also Erstickungs- und Rückstaufälle, sodaß der Zusammenhang zwischen Hb-Gehalt und diesen Todesursachen in diesem Bereich zwingend erscheint. (Die Unterscheidung zwischen Erstickungs- und Rückstaufällen kann anhand der Nierenwerte getroffen werden, die - bei gleichen Leberwerten - bei ersteren ebenfalls stark erhöht, bei letzteren dagegen normal sind).

Der Abschnitt III A muß demnach - ähnlich wie bei den Ausblutungsfällen - als Übergangsbereich zu anderen Wertegruppen hin angesehen werden.

In der Nierenkurve stellt sich diese Werteverteilung insofern anders dar, als die Rückstaufälle (= normale Nieren-Hb-Werte) im Bereich der Kurvenabschnitte II und III A und nicht im Abschnitt III B gefunden werden, während die Erstickungsfälle (= hoher Nieren-Hb-Wert) sich gerade dort häufen.

Während bei der Leberkurve weitgehende Identität der Rückstau- und Erstickungsfälle mit dem oberen Kurvenabschnitt besteht, also kaum andere Fälle dort vorkommen (in III B gar keine), findet sich bei der Niere in jedem Abschnitt auch eine Reihe anderer Todesursachen und Organveränderungen. (Umgekehrte Verhältnisse wie bei den Verblutungsfällen).

IV ZENTRALE LÄHMUNG

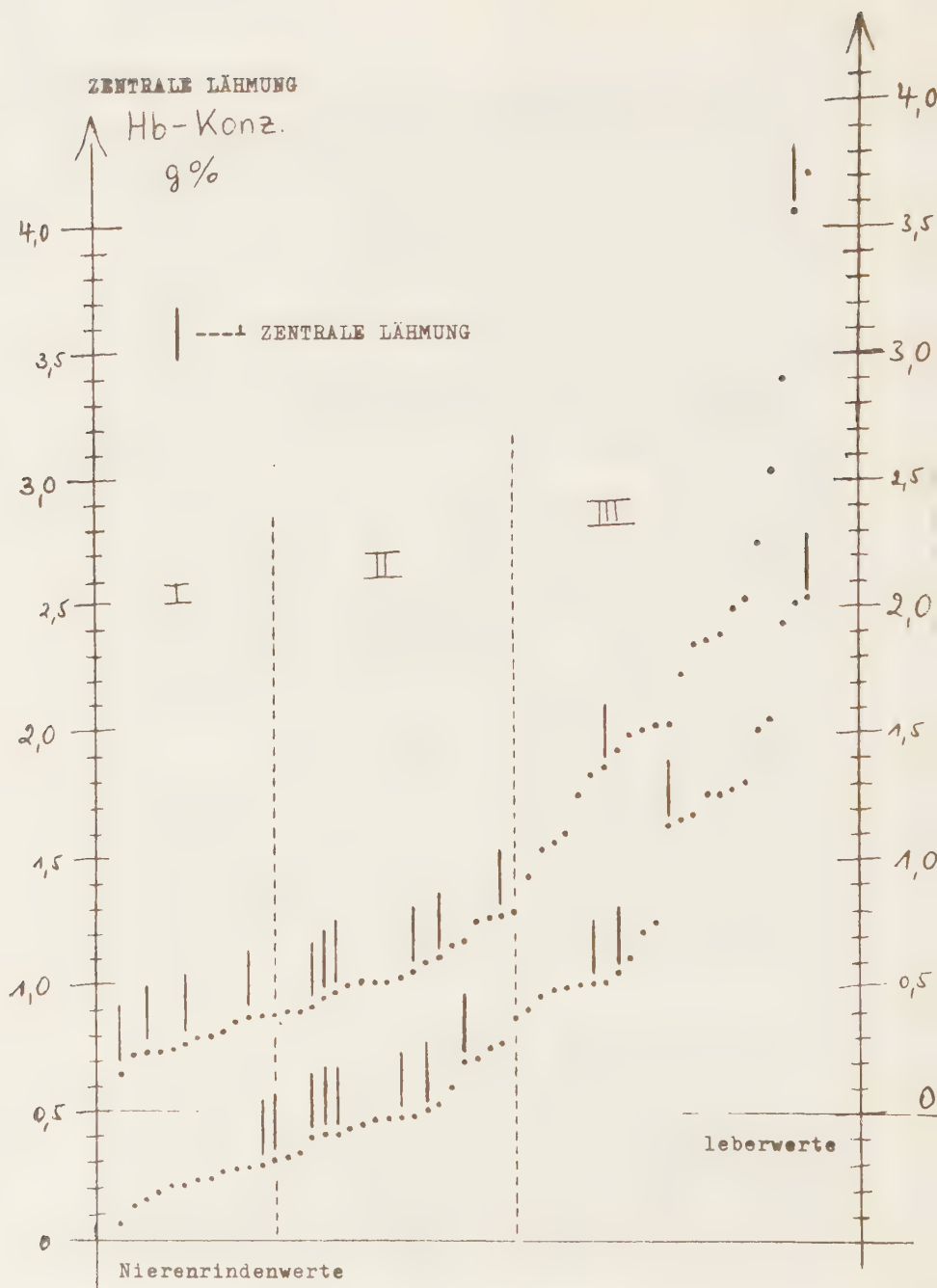
Der mittlere Abschnitt der Verteilungskurve (II) enthält noch vereinzelte Ausblutungsfälle und bei der Nierenkurve auch einen Teil der Fälle von Herzversagen aus Gruppe III, dazu aber auch die Hälfte aller Fälle von Zentraler Lähmung. Die andere Hälfte streut nach oben und unten in die anderen

ZENTRALE LÄHMUNG

Hb-Konz.

9%

--- ZENTRALE LÄHMUNG



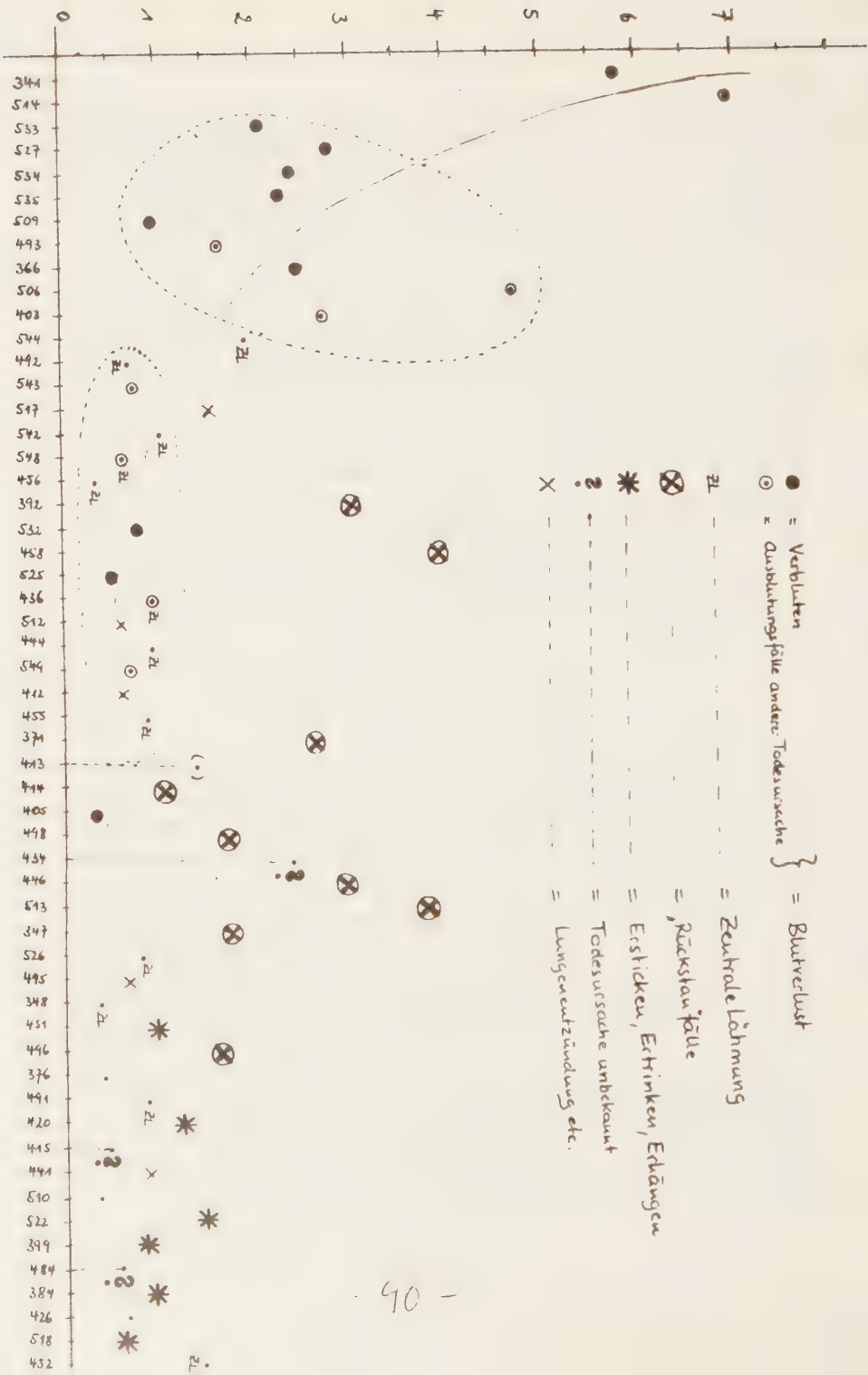
Abschnitte hinein. Die meisten Fälle von zentraler Lähmung liegen also im Bereich etwa normaler Hb-Werte und sind durch relativ gleiche Werte für Leber und Niere charakterisiert, wobei die Leberwerte eher leicht unterhalb der Nierenwerte liegen, das Verhältnis von Leber zu Niere also zwischen 0 und 1 schwankt.

Da es sich beim mittleren Kurvenbereich (II) um die normalen Hb-Werte von Leber und Niere handelt, finden wir hier verschiedene Todesursachen und Organveränderungen zusammen, eben all jene Fälle, die ohne größere Veränderungen des Hb-Gehalts zustande kommen.

Dieser mittlere Abschnitt der Verteilungskurve zeigt, wie erwähnt, eine sehr gute Übereinstimmung der Nieren- und Leberwerte ohne große Streuung, bis auf einzelne Fälle, bei denen die Leberwerte sehr hoch über den Nierenwerten liegen. Bei diesen Fällen handelt es sich ausschließlich um die Rückstaufälle der Gruppe III, die sich im Diagramm gut gegen die übrigen Fälle abgrenzen.

V VERHÄLTNIS LEBER - ZU NIERENWERT.

Schon mehrfach zogen wir bei unseren Untersuchungen die Kombination der Leber- und Nierenwerte zur Information heran, meist in Form des Verhältnisses von Leber-Hb-Wert zu Nieren-Hb-Wert $V = \frac{L}{N}$. Auf Grund der unterschiedlichen Leber- und Nierendurchblutung bei den verschiedenen Gruppen von Fällen erschien uns das Auftragen von V gegen steigende Hb-Werte, z.B. der Niere, in einem Diagramm aufschlußreich: Wir erhalten relativ hohe Werte für V bei allen Ver- und Ausblutungsfällen (Leberwerte immer über den Nierenwerten, Leber blutet nicht so vollständig aus!), wobei sich eine hyperbelartige Verteilung der V-Werte andeutet; mit steigenden Nieren-Hb-Werten nimmt V ab. Der Leber-Hb-Gehalt sinkt wohl nur bis zu einer bestimmten Grenze, die er nicht unterschreitet, während der Nieren-Hb-Wert sehr viel nied-



rigere Werte erreicht, sodaß V in diesem Bereich sehr groß werden kann.

Der Anfangsteil des Diagramms enthält einen Bereich, in dem nur die Ausblutungsfälle erscheinen. Sie sind charakterisiert durch hohes V bei niedrigen Nieren-Hb-Werten.

In diesem Bereich setzen sich zwei Werte stark von den anderen nach oben ab, d.h. sie weisen die mit Abstand höchsten V-Werte aller Fälle auf. Dieses hohe V kommt durch extrem niedrige Nieren-Hb-Werte zustande:

Nr. 341/72 V= 5,81 Verbluten

Nr. 514/72 V= 6,95 Schock (b. schwerem Trauma...)

Derartige große Unterschiede zwischen Nieren- und Leberdurchblutung erscheinen uns auch bei extremem Ausbluten unwahrscheinlich, umso mehr, als Fälle vergleichbaren Hb-Gehalts viel kleinere V-Werte aufweisen :

Nr. 514/72 V= 6,95 0,133 g% Nieren -Hb

Nr. 533/72 V= 2,09 0,150 g% Nieren- Hb

Aus diesen Gründen und weil beim höchsten V-Wert (514/72) in der Todesursache darauf hingewiesen wird, liegt der Verdacht nahe, es könnte bei den beiden Fällen eine Schockniere vorgelegen haben, also durch zusätzliche Drosselung der Nierendurchblutung ein extrem niedriger Nieren-Hb-Wert bei relativ normalem Leber-Hb-Wert zustande gekommen sein. So wäre der große Unterschied zwischen beiden Organen, das große V erklärbar. Dieses Ergebnis müßte an einer größeren Zahl von Fällen überprüft werden.

Ebenfalls hohe Werte für V finden wir bei den " Rückstau-
fällen der Gruppe III, die sich deutlich von der übrigen Punkteverteilung nach oben absetzen. Sie sind charakterisiert durch hohes V, extrem hohe Leberwerte bei mittleren bis mäßig hohen Nierenwerten. Aus dem Diagramm ergibt sich, daß der Fall Nr. 513/72 (Todesursache Ersticken) in un-

seren Werten eindeutig als Rückstaufall erscheint (ductus botalli und offenes foramen ovale), daß in unserer Untersuchung also die Veränderungen auf Grund der pathologischen Kreislaufverhältnisse überwiegen. Auch der Fall Nr. 434/72 (Todesursache unbekannt) liegt so gut im Bereich der Rückstaufälle, daß man fast eine entsprechende Todesursache (Herzversagen, Embolien) ableiten könnte. Der Fall Nr. 413/72 - mehrfach erwähnt - muß auch hier wegen der widersprüchlichen Angaben und zweifelhaften Todesursache aus der Betrachtung ausgenommen werden.

Das V aller Fälle von zentraler Lähmung schwankt - von einem Fall abgesehen, der etwas höher aber durchaus noch im Gesamtbereich liegt - von 0-1 (meist von 0,5-1). Die Werte liegen dabei im Bereich mittlerer Nieren-Hb-Werte, wenn man von einer gewissen Streuung und dem Fall Nr. 452/72 absieht, der (Todesursache zentrale Lähmung bei vermuteter Leberstauung - schlaffes und ausgeweitetes Herz !) weder zu den Rückstaufällen noch zu denen mit zentraler Lähmung passen will. Wahrscheinlich wurde er durch seinen sehr hoch ausgefallenen Nieren-Hb-Wert in einen falschen Wertebereich gerückt.

Ebenfalls V-Werte um 1 herum, (zwischen 0,5 und 1,5), besitzen die Erstickungsfälle der Gruppe II, die im Gegensatz zur zentralen Lähmung jedoch nur bei hohen (meist sehr hohen) Nieren-Hb-Werten vorkommen.

Die bei diesem Schema nicht erfaßten acht restlichen Fälle anderer Todesursachen haben alle ein V zwischen 0,5 und 1,5 und finden sich im mittleren bis höheren Hb-Wertebereich, dagegen nicht bei den sehr niedrigen Hb-Werten. Erwähnenswert ist vielleicht, daß unter diesen acht Fällen anderer Todesursachen fünf Fälle von Lungenentzündung bzw. Herz-Kreislaufversagen infolge Lungenentzündung und entzündlicher Lungenveränderungen vorkommen (Nr. 517,512,412,495 und 441) und von diesen fünf Fällen sich vier im mittleren Nieren-

L+N

- ⊙ = Blutverluste, Verbluten
- ⊗ = Zentrale Lähmung
- * = Rückströme, Herzversagen usw.
- ? = Ertrinken, Erhängen
- X = Todesursache unbekannt
- = Lungenerkrankung usw.

341
514
533
527
534
535
509
493
366
506
403
425
492
453
457
452
548
486
362
532
458
525
436
512
444
545
412
455
371
413
414
405
498
434
446
513
347
526
495
348
451
496
376
491
420
415
441
510
522
399
484
384
426
518
452



- 93 -

ZL

Hb-Wertebereich befinden (nur 441 liegt mit 1,750 g% zu hoch).

Die übrigen drei Fälle - in keine der bisher erwähnten Gruppen passend - liegen alle im Bereich sehr hoher Hb-Werte und umfassen Stromtod (376), Schädelsteckschuß (426) und Coronarverschluß ohne Stauungszeichen (510).

Zur Darstellung der Fälle der Gruppen II und III, die sich durch normalerweise besonders hohe Hb-Werte auszeichnen, bildeten wir die Summe aus Leber-Hb-Wert und Nierenrinden-Hb-Wert (= L + N) aller Fälle und trugen die Werte in ein Diagramm mit steigendem Hb-Wert (Nierenreihe) ein. Die Summenwerte geben die durchschnittliche Durchblutung beider Organe einer Leiche wieder (eigentlich $\frac{L + N}{2}$, doch am Verhältnis der Werte zueinander ändert sich dadurch nichts !). Extreme Unterschiede im Hb-Gehalt beider Organe gleichen sich aus und kommen nicht zur Darstellung, dagegen setzen sich die Werte gleichmäßig mittlerer bis hoher Durchblutung von Leber und Niere umso deutlicher von den übrigen Fällen nach oben ab, eben die Fälle der Gruppen II und III.

Zusammenfassung :

1.) Ausblutungsfälle, Blutverlust

a) Verbluten und Fälle mit entsprechendem Ausblutungszustand :

Nieren-Hb-Wert :	kleiner als 0,30 g%
Leber- Hb-Wert :	kleiner als 0,80 g%
V :	größer als 1 (1-5)

b) Blutarmut durch Blutverlust oder Durchblutungsstörungen:

Nieren-Hb-Wert :	0,28 - 0,70 g%
Leber- Hb-Wert :	kleiner als 0,80 g%
V :	0 - 1

c) Schockniere

Nieren- Hb-Wert:	kleiner als 0,15 g%
V :	größer als 5,5

2.) Ersticken, Ertrinken, Erhängen

Nieren-Hb-Wert : größer als 1,00 g%
Leber-Hb- Wert : größer als 1,00 g%
V : 0,5 - 1,5

3.) Herzversagen bei Drucküberlastung, Einflußstauung

Nieren-Hb-Wert : 0,40 - 1,00 g%
Leber- Hb-Wert : größer als 0,80 g%(meist 1,30 g%)
V : 1,5 - 4

4.) Zentrale Lähmung und Lungenentzündung

Nieren-Hb-Wert : 0,30 - 1,70 g%(meist-1,00)
Leber- Hb-Wert : 0,20 - 1,25 g%(meist-0,80)
V : 0 - 1 (meist 0,5 - 1)

C Genauigkeit und Reproduzierbarkeit der mc-Messung

1. Die erhaltenen Hb-Werte sind Mittelwerte aus sechs Meßwerten. Von jedem Organ wurden mindestens drei Schnitte angefertigt und vermessen. Von jedem Schnitt erhielten wir zwei Extinktionswerte, nämlich die Höhe von Maximum II und Maximum III.

Die drei Extinktionswerte der drei Schnitte von Maximum II wurden gemittelt, ebenso die drei von Maximum III. Die so erhaltenen beiden Mittelwerte für Maximum II u. III ergaben im Diagramm der Blutvergleichskurven zwei Hb-Werte desselben Organs, die durch nochmalige Mittelung zum endgültigen Hb-Wert des Organs führten.

Durch diese doppelte Mittelung, die aus ursprünglich sechs Meßwerten für ein Organ einen Endwert ergab, dürften Schneide- und Meßfehler weitgehend ausgeschaltet worden sein.

2. Trotzdem interessierte uns die Abweichung der Meßwerte vom Mittelwert, die die Schneide- und Meßfehler der Methode wiedergibt und damit ein Maß für die Reproduzierbarkeit der einzelnen Meßwerte ist.

Wir errechneten die mittlere prozentuale Abweichung m der Meßwerte von dem jeweiligen Mittelwert nach dem Prinzip der Gaußschen Fehlerquadrate aus den 25 letzten Versuchen für Leber- und Nierenpräparate.

$$m = \sqrt{\frac{\sum v_n^2}{n}}$$

m = mittlerer prozentualer Fehler der einzelnen Meßwerte einer Meßreihe.

V_n = prozentuale Abweichung der einzelnen Meßwerte 1- n von ihrem jeweiligen Mittelwert.

n = Anzahl der Meßwerte ;
6 Werte für die 25 Präparate, also 150 für Leber und 150 für Niere.

Es ergab sich ein mittlerer prozentualer Fehler des einzelnen Meßwerts einer Meßreihe von 11% für Leber und 10,5 % für Nierenrinde. Der etwas kleinere Fehler der Nieren - rindenpräparate gegenüber dem der Leber läßt sich durch die bessere Schneidfähigkeit und Bearbeitbarkeit sowie die größere Homogenität des Nierenrindengewebes erklären. Die angegebenen Fehlerprocente beziehen sich auf die einzelnen Meßwerte und nicht auf das Endergebnis. Die Fehler der Hb-Konzentrationen sind erheblich kleiner, da sie sich durch Mittelung aus 6 Meßwerten ergeben, wobei sich die Fehler der einzelnen Meßwerte teilweise aufheben. Der mittlere prozentuale Fehler eines Hb-Gehalts (ausgedrückt als Extinktionswert) ist deshalb der mittlere Fehler M des Mittelwertes der 6 Meßwerte :

$$M = \sqrt{\frac{\sum v_n^2}{n \cdot (n - 1)}} \quad n = 6$$

M beträgt z.B. für die Niere von Sektion Nr. 512/72 2,7%. Dieser mittlere Fehler M ist für jedes Organpräparat verschieden, da er von den Fehlergrößen der 6 Meßwerte abhängt, die natürlich schwanken.

Um einen Eindruck von der durchschnittlichen Genauigkeit unserer Werte zu erhalten, errechneten wir für 20 aufeinanderfolgende Nierenpräparate den mittleren prozentualen Fehler M des Mittelwerts und bildeten aus den 20 Fehlerwerten das arithmetische Mittel und wieder den mittleren prozentualen Fehler nach den Gaußschen Fehlerquadraten. Es ergab sich ein Durchschnittswert des mittleren prozentualen Fehlers des Mittelwerts von 3,2% und ein mittlerer Fehler der Mittelwertsabweichung von etwa 4%.

Mit diesem Fehler muß man bei den Hb-Gehalten rechnen. Er beinhaltet a) die Ungenauigkeiten, die bei der Herstellung des Schnitts entstehen (Schneidefehler, Fehler beim Aufziehen etc .),

- b) die Meß- und Ablesefehler am Spektral-
photometer und
- c) die Fehler, die in der Vermessung der
Extinktionskurven (Bestimmung der Ex-
tinktionshöhe der Maxima) liegen.

Er berücksichtigt nicht Fehler, die durch die Blutver-
gleichskurven zustande kommen, stellt also nicht den end-
gültigen Fehler unserer Hb-Konzentrationen in g% dar.
Auch bei den Blutvergleichskurven wurden für jede der acht
Blutkonzentrationen drei Lösungen angefertigt und die Ex-
tinktionshöhen für Maximum II und III der entsprechenden
drei Kurven ausgemessen und gemittelt, sodaß sich Fehler
weitgehend ausgleichen. Schließlich wurde eine Gerade
durch die acht Punkte (= 8 Wertepaare Hb-Konzentration/
mittlere E-Höhe) gelegt und damit noch einmal eine Mit-
telung vorgenommen. Aus dieser Geraden lasen wir die zu den
Extinktionswerten gehörigen Hb-Konzentrationen in g% ab.
Der mittlere prozentuale Fehler der E-Höhe des Maximums II
der Blutvergleichskurven aus den 24 Meßwerten beträgt 4,74%,
die mittlere prozentuale Abweichung der Extinktionsmittel-
werte (der acht Lösungen) 3,13%, die mittlere Geradenab-
weichung 1,18%. Diese Fehlerangaben berücksichtigen die
Fehler der Blutlösungen (Pipettierfehler etc.), Meßfehler
des Spektralphotometers und Fehler bei der Auswertung der
Blutkurven (Ablesefehler etc.). Nur der letzte Fehlerwert
(1,18 %) geht in die endgültigen Hb-Konzentrationswerte
ein, zusammen mit dem mittleren Fehler der Extinktion des
Hb-Gehalts der Präparate (4 %).

Im Übrigen dürfte der die Genauigkeit der Methode begren-
zende Faktor in den Schnitten liegen und nicht in den Blut-
vergleichskurven. Diese lassen sich, einmal erstellt, für
alle Versuche weiterverwenden, sodaß sich der Aufwand einer
noch genaueren Bestimmung durch Verwendung von mehr Meß-
werten lohnen würde.

Das Gleiche gilt für den Fehler, der in der Hb-Bestimmung
des Blutes nach der Eppendorf-Methode liegt. Dieser Fehler,
der über die Blutvergleichskurven ebenfalls in die

endgültige Hb-Konzentration der Präparate eingeht, ist ein für alle Werte gleicher Faktor und hat mit der Genauigkeit der Methode selbst nichts zu tun. Er wurde mit einem mittleren prozentualen Fehler des Mittelwertes der vier durchgeführten Hb-Bestimmungen von 0,63% hier vernachlässigt.

3. Vergleich mit anderen Organ-Hb- Bestimmungsmethoden.

H.Holzer, G. Sedlmayer und H. Kiese beschreiben in der Biochemischen Zeitschrift, Bd. 328 (1956) S. 176 ff., eine " Bestimmung des Blutgehalts von Leberproben zur Korrektur biochemischer Analysen ".

Bei dieser Leber-Hb-Bestimmung (durchgeführt an Ratten !) wird Lebergewebe homogenisiert, mehrmals zentrifugiert und filtriert und das Hämoglobin des Homogenisats nach einer von Evelyn, Malloy und Havemann (J.of.Biol.Chem. 1938 und 1939) beschriebenen Methode zur quantitativen Hämoglobinbestimmung mit Ferricyanid und Cyanid in Cyanhämoglobin umgewandelt, das ein Absorptionsmaximum bei 550 nm, ein Minimum bei 630 nm aufweist. Die Leber-Hb-Messung erfolgt durch Bestimmung des Extinktionsunterschiedes ΔE bei 546 bzw. 578 nm. Ebenso muß eine Messung des ΔE für den Blut- Hb-Gehalt nach Aufbereitung des Blutes ähnlich wie bei der Leber stattfinden. Aus den ΔE - Werten für Leber und Blut ergibt sich der Leberblutgehalt in % : 5,2 % Blutgehalt von Rattenleber.

Beim Vergleich der Hb-Bestimmungsmethode von Holzer mit einer weiteren von Greenberg und Erickson (J.of.Biol.Chem., 1956, S. 679 (1944)), die auf Fällung und Entwässerung des zu untersuchenden Organs mit Aceton beruht (Extraktion von salzsaurem Hämatin mit einem Alkohol-Äther-Gemisch, photometrische Messung bei 635 nm), ergibt sich für die erste Methode ein Rattenleberblutgehalt von 6,1%, für die zweite einer von 10,6 %.

H.Holzer begründet den Unterschied so : " Somit scheinen

Greenberg und Ericksen neben dem eigentlichen Blut der Leber auch deren Leber- und Gallenfarbstoffe zu erfassen, die die Differenz zwischen ihrer und unserer Ferricyanid-KCN- Methode zum größten Teil erklären ".

Wir haben bei unseren Versuchen im Gegensatz zu Holzer keine Volumen - $\%$ - Angaben, sondern direkt die Hb-Konzentration in $g\%$ erhalten. Unser durchschnittlicher Leber-Hb-Wert von 1,025 $g\%$ ergibt bei einem mittleren menschlichen Blut-Hb-Gehalt von 14 $g\%$ (= 100 $\%$) einen durchschnittlichen Leberblutgehalt in Volumenprozent von 7,5 $\%$ (bei 15 $g\%$ Blut-Hb 6,8 $\%$).

Der Vergleich mit den anderen Hb-Bestimmungsmethoden zeigt (bei aller Bedenklichkeit des Blutgehaltvergleichs Rattenleber menschliche Leber):

- a) die grundsätzliche Übereinstimmung unserer Ergebnisse mit denen der anderen Methoden,
- b) die relativ großen Unterschiede in den Ergebnissen zwischen der Ferricyanid-KCN-Methode und der Extraktionsmethode, die auf nicht unerhebliche Ungenauigkeiten schließen lassen (z.B. durch Volumenbestimmungen und Wägungen der Substanzen, die zur Hämolyse und Umwandlung des Hb in bestimmte Verbindungen nötig sind oder durch grundsätzliche Mängel in der Methode, auf Grund derer nicht alles Hb oder zusätzlich zum Hb noch andere, chemisch verwandte Substanzen erfaßt werden),
- c) die einfache und schnelle Durchführbarkeit der Gefrierschnittmethode im Vergleich zu den anderen Methoden.

S C H L U S S

Es wurde eine Organ-Hb- und Farbbestimmungsmethode beschrieben, die bei aller Genauigkeit schnell und mit relativ geringem apparativen Aufwand durchgeführt werden kann.

Die Ergebnisse unserer Untersuchungen haben eine Reihe von Zusammenhängen zwischen Hb-Gehalt und Todesursache, bzw. Organveränderungen aufgezeigt, die eine Organ- Hb-Bestimmung als Routineschnellmethode interessant erscheinen lassen, umso mehr, als die Farb- und Durchblutungsangaben im Sektionsprotokoll nur grobe Unterscheidungen zulassen und in Bezug auf Richtigkeit und Genauigkeit nicht befriedigen. Objektivierung der Protokollangaben, Diagnosestellung und -sicherung in Bezug auf Todesursache und Organveränderungen wäre der praktische Anwendungsbe- reich dieser Methode in der Gerichtsmedizin. Die in diesem Zusammenhang erzielten Informationen legen weiteres Arbeiten mit dieser Methode, weitere Untersuchungen mit anderer Fragestellung nahe :

1. Untersuchungen am gleichen Organmaterial (Niere, Leber, Herz).

- a) Der Zusammenhang Schockniere/Organ-Hb-Gehalt sollte an einer größeren Versuchsreihe geklärt werden. Es sieht so aus, als würden sich die Schockfälle durch extrem hohe Werte für V sehr gut von den anderen Fällen abgrenzen und so eine Diagnose ermöglichen.
- b) Interessant wären Untersuchungen über CO- Ver- giftungen, Cyan- und Met-Hämoglobinbildung, da diese Hb-Typen bei anderen Wellenlängen als O₂-Hb absorbieren und damit an veränderten Extinktions- kurven zu erkennen wären. (Diese stabilen Hb-Typen müßten trotz Kontakts mit der Luft auch im

Gewebeschnitt erhalten bleiben !).

- c) Die in der Arbeit angedeuteten Zusammenhänge zwischen Organveränderungen und Hb-Gehalt legen es nahe, genauere Untersuchungen in dieser Richtung an einer großen Zahl von Fällen anzustellen, z.B. Pyelonephritis und Nieren-Hb-Gehalt oder Fettleber, Lebercirrhose und Leber-Hb-Gehalt.

2. Schließlich könnte auch die Ausdehnung der Arbeit auf andere Organe (z.B. Gehirn, Milz, Schilddrüse, Pankreas, Ovar etc.) neue Zusammenhänge aufzeigen und einige interessante Ergebnisse bringen.

L I T E R A T U R V E R Z E I C H N I S

- | | |
|---|---|
| K.A.Evelyn,H.T.Malloy | J.of Biol. Chem. Nr. 126, 1938 |
| A.Greenberg,D.Erickson | J.of.Biol. Chem. Nr. 156, 1944 |
| H.Holzer | "Bestimmung des Blutgehalts von
Leberproben zur Korrektur bio-
chemischer Analysen. "

Biochemische Zeitschrift Bd.328
1956

Biochemische Zeitschrift Bd.329
1957 |
| G. Lins | "Remissionsanalyse zur farblichen
Charakterisierung der Leichenhaut."

Beiträge zur gerichtlichen
Medizin 1968 |
| G.Lins | "Remissionsmessungen zur farblichen
Charakterisierung der lebenden
menschlichen Haut."

Beiträge zur gerichtlichen
Medizin 1969 |
| G. Lins, K.Hamper | "Das remissionsanalytische Hautfarb-
bild von artefiziellen Blutergüssen."

Beiträge zur gerichtlichen
Medizin 1970 |
| Photometrische Methoden, Medizin, Eppendorf | AV 830 |
| W. Schwerd | "Der rote Blutfarbstoff", 1962 |

LEBENS LAUF

Am 23.11. 1947 wurde ich, Wolfgang Alfred Spuhler, als Sohn des Direktors Alfred Spuhler und dessen Ehefrau Rosa, geborene Huber, in München geboren. Ich besitze die deutsche Staatsangehörigkeit und gehöre der römisch-katholischen Kirche an.

1954 trat ich in die erste Klasse der Volksschule an der Wörthstr. 2 ein. Nach der vierten Volksschulklasse wechselte ich 1958 in das Maria-Theresie-Gymnasium, München 90, Regerplatz 1 über. Nach bestandenen Abitur verließ ich das Gymnasium im Juli 1967.

Im Oktober 1967 war ich an der Orthopädischen Klinik München, Harlacherstr. 51 in der Krankenpflege tätig und begann zum Wintersemester 1967/68 das Medizinstudium an der Universität München. 1968 bestand ich die naturwissenschaftliche, 1970 die ärztliche Vorprüfung. Im September und Oktober 1971 hatte ich eine Famulatur an der 1. Medizinischen Abteilung, im März und April 1973 an der Chirurgischen Abteilung des Krankenhauses München-Harlaching und im Oktober 1973 an der 1. Frauenklinik der Universität München.

Im Mai 1972 begann ich meine Dissertationsarbeit am Institut für gerichtliche und Versicherungsmedizin der Universität München.

Ich hoffe, nach dem Wintersemester 1973/74 das medizinische Staatsexamen ablegen zu können.

